

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-44509

(43) 公開日 平成11年(1999) 2月16日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I	
G 0 1 B 11/00		G 0 1 B 11/00	H
G 0 1 N 21/27		G 0 1 N 21/27	F
			A
33/543	5 8 7	33/543	5 8 7
35/00		35/00	F

審査請求 未請求 請求項の数26 O L 外国語出願 (全 51 頁)

(21) 出願番号	特願平10-63331	(71) 出願人	598026840 オルソークリニカル ダイアグノスティク ス, インコーポレイティド アメリカ合衆国, ニューヨーク 14626- 5101, ロチェスター, インディゴ クリー ク ドライブ 100
(22) 出願日	平成10年(1998) 3月13日	(72) 発明者	ジャン シェン アメリカ合衆国, ニュージャージー 08540, プリンストン, レハイ コート 27
(31) 優先権主張番号	0 8 / 8 1 6 3 1 4	(72) 発明者	ティエル ドゥビネ スイス国, ツューハー-8003 チューリ ヒ, チューリンデンシュトラッセ 105
(32) 優先日	1997年 3月13日	(74) 代理人	弁理士 石田 敬 (外3名)
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		

(54) 【発明の名称】 凝集反応を分析するためのイメージング装置を校正するための方法及び装置

(57) 【要約】

画素アレイと、該画素アレイ上に水溶液の照明映像を集束させるための可変集束レンズとを含む水溶液を分析するための装置を校正するための方法、及び校正装置。本方法は、校正装置上のパターンに照明を当ててその照明映像を形成させる工程、その照明映像を該レンズを介して該画素アレイ上に向けさせる工程を含む。本方法は、さらに該画素アレイ上の映像を代表するデータ値を引き出す工程、及びそのデータ値を使用して、該画素アレイに対し、該レンズの焦点を調整し且つ該校正装置の位置を調整する工程を含む。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 画素アレイと、該画素アレイ上に水溶液の照明映像を集束させるための可変集束レンズを含む水溶液を分析するための装置を校正するための方法であって、あるパターンを表面に有する校正装置を準備する工程、前記パターンに照明を当ててその照明映像を形成させる工程、前記照明映像を該レンズを介して該画素アレイ上に向けさせる工程、該画素アレイ上の映像を代表するデータ値を引き出す工程、及び前記データ値を使用して、該画素アレイに対し、該レンズの焦点を調整し且つ該校正装置の位置を調整する工程を含んで成る方法。

【請求項2】 前記データ値を使用する工程が、前記データ値を使用して、該画素アレイ上の前記映像の集束度を代表する所定のパラメータのための値を決定する工程、及び該所定のパラメータが所定の値の範囲に到達するまで、該レンズの焦点を調整する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記データ値を使用する工程が、前記データ値を使用して、該画素アレイ上の該映像の解像度を代表する所定のパラメータのための値を決定する工程、及び該所定のパラメータが所定の値の範囲に到達するまで、該校正装置と該画素アレイとの間の距離を調整する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】 該校正装置上のパターンが、平行な第一及び第二の縁部を含む、該画素アレイ上の前記パターンの映像が、前記第一及び第二の縁部の映像を含む、前記データ値を使用する工程が、前記データ値を使用して、該画素アレイ上の前記第一及び第二の縁部の映像間の距離を決定する工程を含む、前記調整工程が、前記第一及び第二の縁部の映像間の距離が所定の値の範囲に到達するまで、該校正装置と該画素アレイとの間の距離を調整する工程を含む、請求項3に記載の方法。

【請求項5】 前記データ値を使用する工程が、前記データ値を使用して、校正カセットの横方向の位置を調整する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項6】 前記データ値を使用して校正カセットの横方向の位置を調整する工程が、該校正カセット上のパターンの映像が該画素アレイ上の所定の位置に到達するまで該校正カセットの横方向の位置を調整する工程を含む、請求項5に記載の方法。

【請求項7】 該装置が、該カセットを一定範囲の位置において保持するための手段と、該カセットを前記範囲を差し渡し移動させるための移動手段とをさらに含み、そして該カセットの横方向の位置を調整する工程が、前記データ値を使用して、該所定の位置に対する該画素

アレイ上の映像の位置を指示する信号を発生させる工程、及び前記信号を該移動手段へ伝送して、該移動手段を動作させて該校正カセットを移動し且つ該画素アレイ上の映像を所定の位置に向けて移動する工程を含む、請求項6に記載の方法。

【請求項8】 前記データ値を引き出す工程が、アナログ・デジタルコンバーターを使用して該画素アレイ上の映像を代表するデジタルデータ値を引き出す工程を含み、該校正装置上のパターンが、光学濃度の異なる複数の領域を含み、そして該パターンの前記領域を使用してアナログ・デジタルコンバーターを校正する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項9】 前記データ値を引き出す工程が、(1) 該画素アレイ上の映像を代表するアナログ信号を発生させる工程、及び(2) アナログ・デジタルコンバーターを使用して該アナログ信号を該画素アレイ上の映像を代表するデジタルデータ値へ変換する工程を含み、そして前記データ値を使用する工程が、前記デジタルデータ値を使用して該アナログ・デジタルコンバーターを校正する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項10】 該校正装置上のパターンが、光学濃度の異なる複数の領域を含み、前記照明映像を向けさせる工程が、該画素アレイ上に前記領域の映像を形成させる工程を含み、前記データ値を引き出す工程が、該画素アレイ上の前記領域の映像を代表する一組のデジタルデータ値を引き出す工程を含み、そして前記データ値を使用して該アナログ・デジタルコンバーターを校正する工程が、該画素アレイ上の前記領域の映像を代表するデジタルデータ値を使用することにより該アナログ・デジタルコンバーターを校正する工程を含む、請求項9に記載の方法。

【請求項11】 アナログ・デジタルコンバーターを使用して該アナログ信号をデジタルデータ値へ変換する工程が、該アナログ・デジタルコンバーターを使用して、調整可能な変数を有する所定の調整可能な変換プログラムに従い、該アナログ信号をデジタルデータ値へ変換する工程を含み、さらに、前記デジタルデータ値を使用して該アナログ・デジタルコンバーターを校正する工程が、前記デジタルデータ値を使用して、前記調整可能な変数を調整することで、該アナログ・デジタルコンバーターにより得られたデジタル値と、該校正装置上のパターンに関連する既知のデジタル値との間の所定の相関を得る工程を含む、請求項9に記載の方法。

【請求項12】 前記デジタルデータ値を使用して前記調整可能な変数を調整する工程が、該画素に関連するゲイン及びオフセットの係数を選択的に調整することで、処理されたデジタル値と前記既知のデジタル値との間の所定の相関を得る工程を含む、請求項11に記載の方

法。

【請求項13】 前記データ値を使用する工程が、該校正装置に対する該画素アレイの位置を調整した後に、前記データ値を使用して該レンズの焦点を再調整する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項14】 該装置が、該水溶液に照明を当てるための光源をさらに含み、そして前記データ値を使用する工程が、該データ値を使用して該光源の状態を確認する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項15】 該装置が、該水溶液に照明を当てるための光源をさらに含み且つ、該校正装置上のパターンが光を反射するための画定された領域を含み、そして該校正装置上の前記画定された領域を使用して該光源の状態を確認する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項16】 水溶液を分析するためのプログラムであって画素アレイと該画素アレイ上に該水溶液の照明映像を形成させるための照明二次装置とを含む分析装置に用いられるものを検査するための方法であって、少なくとも一つの特定の関連するパラメーターについて既知の値を有する少なくとも一種の水溶液を代表する画定された領域を含む校正装置を準備する工程、該画素アレイ上に前記画定された領域の照明映像を形成させる工程、該画素アレイ上の映像を代表するデータ値を引き出す工程、前記データ値を処理するプログラムを使用して、前記画定された領域により代表される水溶液に関連する特定のパラメーターについて値を決定する工程、及び前記決定された値と前記既知の値とを比較して、該プログラムの状態を評価する工程を含む方法。

【請求項17】 該特定のパラメーターが反応分類であり、前記一種の水溶液が既知の反応分類を有しており、該プログラムを使用して該特定のパラメーターについての値を決定する工程が、該一種の水溶液についての反応分類を決定する工程を含み、そして前記比較する工程が、該決定された反応分類と該既知の反応分類とを比較して該プログラムの前記状態を評価する工程を含む、請求項16に記載の方法。

【請求項18】 凝集反応を分析するための装置を校正するため製品であって、少なくとも第一及び第二の透明領域を有する基板と、該基板の該第一の透明領域上の複数の反応像であってそれぞれが凝集反応の結果を示しているものと、該基板の該第二の透明領域上のグレースケールであって光学濃度の異なる複数のストリップを含むものとを含んで成る製品。

【請求項19】 該基板が、光を反射するための第三の不透明領域を含む、請求項18に記載の製品。

【請求項20】 該複数の反応像が、四種類の凝集反応

の結果を示す四種類の反応像を含む、請求項18に記載の製品。

【請求項21】 凝集反応を分析するための装置であって、

凝集反応の結果を示す少なくとも一種の水溶液を有するカセットを保持するための手段と、

該保持手段の中に配置されており、(1) 基板及び

(2) 該基板上的パターンを含む校正カセットと、画素アレイと、

10 該校正カセットに照明を当てて該校正カセット上のパターンの照明映像を生ぜしめるための照明二次装置と、前記パターンの照明映像を該画素アレイ上に集束させるための可変集束レンズと、

該画素アレイ上の前記パターンの照明映像を代表するデータ値を引き出し且つ前記データ値を所定のプログラムに従い処理することにより、該画素アレイ上の前記パターンの照明映像の集束度を代表する第一のパラメーターについての値を決定し且つ、該画素アレイに対する該校正カセットの位置を代表する第二のパラメーターについての値を決定するための処理二次装置とを含んで成る装置。

【請求項22】 該保持手段が、

(1) 該校正カセットを保持するホルダーと、

(2) 該ホルダー及び該校正カセットを該画素アレイに向けて及び該画素アレイから離れる方向に移動させるためのモーターとを含み、そして該処理二次装置が、

10 (1) 該第二のパラメーターについての値が一定の範囲を上回る場合には該ホルダー及び該校正カセットを該画素アレイに向けて移動させ、また(2) 該第二のパラメーターについての値が該一定の範囲を下回る場合には該ホルダー及び該校正カセットを該画素アレイから離れる方向に移動させるために、信号を発生し且つ前記信号を該モーターへ送るための手段を含む、請求項21に記載の装置。

【請求項23】 該処理二次装置が、前記データ値を該所定のプログラムに従い処理することにより、該画素アレイに対する該校正カセットの横方向の位置を代表する第三のパラメーターについての値を決定する、請求項21に記載の装置。

40 【請求項24】 該保持手段が、該校正カセットを該画素アレイに対して横方向に移動させるための移動手段を含み、そして該処理二次装置が、該校正カセットを所定の横方向の位置に移動させる前記移動手段を作動させるため、信号を発生し且つ該信号を該移動手段へ送るための手段を含む、請求項23に記載の装置。

【請求項25】 該校正カセット上のパターンが、所定のパラメーターの組合せについての既知の値を有する凝集反応を代表する少なくとも一つの領域を含み、そして該処理二次装置が、

(1) 前記データ値を処理して該所定のパラメーターの

組合せについての値を決定するための手段と、

(2) 前記決定された値を前記既知の値と比較するための手段と、

(3) 前記決定された値と前記既知の値との間に所定の相関が存在するか否かを指示するための手段とを含む、請求項 21 に記載の装置。

【請求項 26】 該画素アレイの画素が、該画素アレイ上の前記パターンの照明映像を代表する電気信号を発生させ、そして該処理二次装置が、

(1) 前記電気信号を受け且つ該電気信号を調整可能な変数を有する所定の変換プログラムに従いデジタルデータへ変換するためのアナログ・デジタルコンバーターと、

(2) 前記調整可能な変数を調整することで、該アナログ・デジタルコンバーターにより得られたデジタル値と該校正装置上のパターンに関連する既知のデジタル値との間の所定の相関を得るための手段とを含む、請求項 21 に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、一般に、免疫凝集反応にตอบสนองして形成された凝集体を検出、定量するための自動化された画像処理技術を使用する装置に関する。より詳細には、本発明は、このような装置を校正するための方法及び装置に関する。

【0002】

【従来の技術】免疫凝集反応は、血液型の確認や、血液試料その他の水溶液における抗体及び抗原の検出に用いられる。従来法では、赤血球試料を試験管やマイクロプレートにおいて血清又は血漿と混合した後、その混合物を遠心分離にかけ、通常は、必要ではないが、該混合物をさらにインキュベートしてから遠心分離にかけ、該混合物中では、例えば、赤血球の血液型によって、或いは血液試料中に特定の抗体が存在するか否かによって、様々な反応が起こったり起こらなかったりする。

【0003】典型的に、これらの反応は、表面に抗原及び抗体を有する細胞又は粒子の塊として現れ、凝集体と呼ばれている。このような塊がまったくないということは、反応がまったく起こらなかったことを示唆し、このような塊が存在するということは、反応が起こったことを示唆している。さらに、反応が起こった場合には、形成した塊の大きさや量は、血液試料の試験対象となる複合体の該試料におけるレベル又は濃度を定量的に指示するものとなる。また、形成した塊の大きさや量は、該反応を生ぜしめるために用いた試薬に対する該複合体の親和性を定量的に指示するものにもなる。

【0004】最近、新しい凝集試験法（カラム凝集技法又は CAT と呼ばれている）が開発された。カラム凝集技法とは、イムノアッセイのために凝集した、沈殿した、吸収された又は吸着された粒状成分を非反応性成分

から分離する手段として濾過を利用する血液及び血液製品の分析法として定義することができる。この方法では、マイクロカラムと呼ばれる小型カラムの中にゲル又はガラスビーズの微小粒子を含有させる。このマイクロカラム内で希釈剤中に抗-IgG のような試薬を分配し、そしてそのカラムの上部の反応室に試験試料の赤血球を入れる。その後、典型的には透明なカセットの内部に形成された複数のカラムの一つであるそのカラムを、遠心分離にかけ、

10 【0005】この遠心分離によって、試薬と血液試料との間に反応が起こる場合には該反応が促進され且つ、血液試料の細胞がカラムの底部の方へ追いやられる。しかしながら、マイクロカラム内のガラスビーズ又はゲルが、該カラム内での粒子の下方への移動に抵抗を与え又はこれを妨害するフィルターとして作用する。その結果、遠心分離後のマイクロカラム内の粒子の性質及び分布により、マイクロカラム内で凝集反応が起こったか否か、そして起こった場合にその反応強度について、視覚的な指標が得られる。

20 【0006】具体的には、凝集反応がまったく起こらなかった場合には、マイクロカラム内の血液試料の細胞のすべて又は実質的にすべてが遠心分離の際にカラムの底部にまで下降し、これらの細胞が底部にペレットを形成する。対照的に、試薬と血液試料との間で非常に強い反応が起こると、試料の細胞の実質的にすべてが凝集し、そして大きな凝集体がマイクロカラムの上部のその中に含まれているゲル又はガラスビーズの上に形成される。ゲル又はガラスビーズが遠心分離の際のカラム底部へ向かう凝集体の通過を妨害するため、遠心分離後、その凝集体はゲル又はガラスビーズの上に残されたままとなる。

30 【0007】試薬と血液試料との間に反応はあるが、その反応が上記のような非常に強いものでない場合には、血液試料の細胞のすべてではない一部が凝集する。凝集する細胞の割合及び凝集した粒子の大きさは、どちらも反応の強さに伴い直接変化する。遠心分離の際、未反応細胞はカラムの底部まで通過し、そして凝集した粒子がカラム内で下方へ移動する距離は、該粒子の大きさ及び数に依存する。このため、マイクロカラムの底部におけるペレット状細胞の大きさと、マイクロカラム内のゲル又はガラスビーズ中に凝集体が貫通していく程度とは、どちらも試薬と血液試料との間の反応の強さに反比例する。

40 【0008】従来より、凝集反応のパターンは陰性又は陽性のいずれかに分類され、そして陽性の場合には、その反応をその強度に依存する一連のクラスの一つにさらに分類している。従来より、この分類は、カラム内の反応パターンを観察、又は読み取る、熟練者又は作業員によって行われている。この目的のために熟練者を使用することにはいくつかの欠点がある。例えば、熟練者は、

反応を適正に読み取り且つ分類するため、高度な技量を有し且つ訓練を受ける必要がある。また、高度な技量を有し且つ訓練を受けた熟練者であっても、その分類には人的解釈が入り込むため、分類の一貫性や再現性を向上できるものと考えられる。これらの欠点があるため、凝集反応の分類を自動化すべく努力が払われている。

【0009】マイクロカラム内の凝集反応を読み取り且つ分類するための自動化された装置の一つが、同時係属米国特許出願第08/163,996号(発明の名称「凝集反応を分類するための方法及び装置 (Method and System For Classifying Agglutination Reactions)」)に記載されている。この同時係属米国特許出願に記載されている方法は、コンピューター化されたイメージング装置に基くものである。この方法によると、凝集反応の像をアレイ状の画素上に形成させ、これらの画素が電荷を発生し、これをデジタルデータ値に変換する。次いで、これらのデータ値を所定のプログラムに従い処理し、その像の中に凝集パターンが存在しているかどうかを決定し、そして存在している場合にはそのパターンを所定の複数のクラスのうちの一つに分類する。この装置で一貫した試験結果を得るためには、その装置を規則的に校正することが望まれる。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、溶液を凝集パターンについて分析するために用いられるイメージング装置を校正することにある。本発明の別の目的は、強度及びコントラストに一貫性のある像を発生させるべく溶液イメージング装置を調整し且つ装置のハードウェア及びソフトウェアの性能を確認するための方法を提供することにある。本発明のさらに別の目的は、溶液を凝集パターンについて分析するために、イメージング装置のダイナミックレンジを決定し且つ調整するための写真用グレースケールと共に、さらには装置及び装置ソフトウェアを検査するための凝集反応の印刷像と共に、用いられる校正カセットを提供することにある。

【0011】

【課題を解決するための手段】これら及びその他の目的は、画素アレイと、該画素アレイ上に水溶液の照明映像を集束させるための可変集束レンズとを含む、水溶液を分析するための装置を校正するための方法によって達成される。本法は、あるパターンを表面に有する校正装置を準備する工程、そのパターンに照明を当ててその照明映像を形成させる工程、及びその照明映像を該レンズを介して該画素アレイ上に向けさせる工程を含む。本法はさらに、該画素アレイ上の映像を代表するデータ値を引き出す工程、及びこれらのデータ値を使用して、該画素アレイに対し、該レンズの焦点を調整し且つ該校正装置の位置を調整する工程を含む。

【0012】好ましくは、校正装置は、異なる凝集反応の印刷像及び光学濃度の異なる複数のストリップを含む

写真用グレースケールを含む。該グレースケールを使用してイメージング装置のダイナミックレンジを決定し且つ調整することができる。凝集反応像を使用して、試験カセットの走査位置を決定すること及び映像分析装置のソフトウェア及びイメージング設備を検査することができる。本発明の方法及び校正装置は、イメージング装置の定期的な品質管理に、さらには該装置の長期安定性の監視に、使用することもできる。本発明のさらなる利益及び利点は、本発明の好ましい実施態様を具体的に示す添付の図面を参照する以下の詳細な説明から明らかとなる。

【0013】図1は、基板又は本体12と、その上に形成されたイメージパターン14とを含む校正カセット10を示す。好ましくは、カセット10は、ガラスのような透明な材料の上にパターン14を印刷することにより製作される。図1に示したカセット10の好ましい実施態様では、イメージパターン14は写真用グレースケール16を含み、それは順に、光学濃度の異なる複数のストリップ16a、16b、16c、16d、16e、16f及び16g、入射光を反射し且つ透過光を遮断する不透明な白色領域20、並びに典型的にはマイクロカラムにおいて見られる4種の凝集反応の画像22a、22b、22c及び22dを含む。ホルダー(図示なし)をカセット10の上側に取り付け、これを使用してカセットの移動を手助けすることができる。具体的には、このホルダーを使用して、カセットを、自動化されたムーバーに接続又は搭載し、該ムーバーを使用してカセットを移動する。

【0014】校正工程では、以下詳細に説明するように、校正カセットの照明映像を画素アレイの上に現す。これらの画素は、画素アレイ上の照明映像の光強度パターンを代表する電荷を発生させ、これらの電荷はデジタルデータ値に変換される。その後、これらのデータ値を所定のプログラムに従い処理し、そしてその映像に含まれる情報に基づき、プログラムが、装置を自動的に調整するか、又はマニュアル調整を要請するためにオペレーターに信号を送る。

【0015】写真用グレースケール16を使用してイメージングボードのゲイン値とオフセット値を調整し、以下詳細に説明するように、映像中に一貫した強度及びコントラストを得る。より具体的には、上記したように、写真用スケール16は光学濃度の異なる複数のストリップ16a~16gを含む。ストリップの光学濃度(OD)は、 $OD = \log(I_i / I_t)$ と定義される。ここで、 I_i は入射光の強度を表し、そして I_t は透過光の強度を表す。このように、光学濃度値が高いことは光の透過率が低いことを意味し、また光学濃度値が低いことは光の透過率が高いことを意味する。

【0016】ストリップ16a~16gの光学濃度値を、画素アレイ上の映像の強度を代表するデータ値につ

いて望まれるダイナミックレンジを基準に選定することができる。血液分析用のイメージング装置の場合、赤血球細胞の映像に含まれる画素に低い値を付与し且つ、カセット像の最も明るい領域に含まれる画素に高い値を付与することができる。例えば、画素に割り当てられるデータ値が0～255の範囲にある場合、赤血球細胞の映像に含まれる画素に10の値を付与し、カセット像の最も明るい領域に含まれる画素に245の値を付与することができる。この強度範囲により、その映像強度を飽和させることなく優れたコントラストが得られる。

【0017】イメージングボードのゲイン及びオフセットを調整するためには、異なる二種の光学濃度を示すストリップが最少で2本は必要である。しかしながら、光の状態の線型性を試験するためには、光学濃度の異なるストリップをより多数使用することが好ましい。例えば、実際に実施化された実施態様では、グレースケール16は4種類の光学濃度レベル(2.5、0.44、0.19及び0.09)を有する7枚のストリップ16a～16gを含む。

【0018】ストリップ16a～16gは、校正カセット10上、様々なパターンにおいて配置することができる。好ましい実施態様では、これらのストリップを互いに平行にして列を形成させる。その列の中央部に光学濃度の最も高いストリップを配置し、そしてそのストリップの周辺にその他のストリップを、その中央ストリップから遠ざかるほど光学濃度が低下していくように且つその中央ストリップの左側と右側の対応するストリップ同士の光学濃度が等しくなるように、配置する。具体的には、中央ストリップ16dのすぐ左側及び右側に、二番目に高い光学濃度を示す二本のストリップ16c及び16eを配置し、ストリップ16c及び16eのすぐ外側に、三番目に高い光学濃度を示す二本のストリップ16b及び16fを配置し、そしてストリップ列の左端及び右端に、光学濃度の最も低い二本のストリップ16a及び16gを配置する。このストリップ配置は、イメージング装置の光の状態の対称性を試験するのに有用である。

【0019】写真用スケール16の上には不透明な白色領域20が存在する。上記したように、この不透明領域は、カセットの画素アレイが配置されている側からの入射光を反射するが、その反対側からの光の透過を遮断する。以下詳細に説明するように、画素アレイ上のこの不透明領域の映像のグレー値を測定することによって、カセットの画素側からの光の強度を測定することができる。

【0020】さらに、校正カセットは、4種類の凝集反応の印刷画像22a～22dを含む。これらの像は、CAT法による血液分析において観測され得る典型的な反応を代表するものである。以下説明するように、これらの像を使用して、上記の調整を行った後に、装置及びイ

メージ処理用ソフトウェアを検査する。

【0021】図2は、画像印刷物22a～22dをさらに詳細に示すものである。反応画像22aは、弱い陽性反応を代表するものであって、通常は+0.5反応の分類がなされるものである。この種の弱い反応の場合、血液試料中の細胞は、凝集して多少の小さな凝集粒子を形成するものもあるが、その大部分は反応しない。遠心分離中、凝集した粒子はマイクロカラムの下半分に分布し、試料の未反応細胞はカラムの底部にまで通過してベレットを形成する。

【0022】反応画像22bは典型的な+2反応を代表するものである。この反応では、血液試料中の細胞のうち相当な割合が反応して凝集する。遠心分離中、未反応赤血球はカラムを通過してマイクロカラムの底部に小さなベレットを形成し、そして凝集した粒子はカラムの長さ方向にわたり分布することになる。

【0023】反応画像22cは+3反応分類を示し、この場合には血液試料中の細胞の大部分が凝集し、その凝集した粒子は遠心分離後にマイクロカラムの上半分に残存する。+4反応分類の場合、反応画像22dに示したように、血液試料中の細胞のすべて又は実質的にすべてが凝集し、マイクロカラム内のフィルターの最上部に大きな凝集体を形成する。

【0024】図3及び図4は、凝集反応を分析及び分類するための画像処理装置30であってカセット10を用いて校正することができるものを示したものである。装置30は、同時係属米国特許出願第08/163,996号及び同第08/075,028号に詳細に記載されている自動分析装置と同等のものである。本明細書ではその記載を参照することにより援用する。

【0025】一般に、装置30は、カセット位置決め二次装置32、照明二次装置34、イメージング二次装置36及びデータ処理二次装置40を含み、さらに好ましくは貯蔵二次装置42を含む。図3及び図4に示した装置30の実施態様によると、カセット位置決め二次装置は、カセットホルダー44及び搬送組立体46を含み、また照明二次装置は、一組の蛍光灯50及び52並びに拡散体54を含む。イメージング二次装置は、画素アレイ60、ハウジング62及びレンズ組立体64を含み、このレンズ組立体64は、レンズ66、フィルター70及びレンズハウジング72を含む。さらに、好適なデータ処理二次装置40は、プレプロセッサ、メインプロセッサ76及びキーボードのような入力手段を含む。

【0026】一般に、位置決め二次装置32を設けてカセットを位置決め且つ保持し、その間にカセットの映像をイメージング二次装置36の上に形成させる。また、照明二次装置34を設けて、カセットの照明映像をイメージング二次装置36の上に形成させる。この映像がイメージング二次装置上に形成されている間、この二次装置がその上に形成された照明映像を代表する一組の信号を発

する。これらの信号はデータ処理二次装置 40 へ伝送され、この二次装置がこれらの信号を受けてこれらの信号を所定のプログラムに従い処理する。貯蔵二次装置 42 を設けてカセット 10 を貯蔵してもよい。

【0027】さらに具体的に、貯蔵二次装置 42 は、回転可能なカラーセル 90 と、92 に概略的に示したステッパモーターのような割送り手段とを含む。カラーセル 90 は位置決め二次装置 32 に隣接して配置され、そしてカラーセルは、カセット 10 及び試験カセットを保持するための多数の区分室又はスロット 90a を形成する。ステッパモーター 92 を使用してカラーセル 90 を一連の位置を通して回転させ、その中のカセットと位置決め二次装置 32 のホルダー 44 とを整合させる。

【0028】位置決め二次装置 32 の搬送組立体 46 は、一対のレール 82 及びモーター 84 を含む。レール 82 の左端はカラーセル 92 の上方に配置され、そのレールはそこから図 3 の右方へ水平に延びている。モーター 84 はレール 82 によって支持され、それに沿ってスライド移動する。ホルダー 44 はカセットを掴み且つ解放可能に保持するために設けられ、そして該ホルダーはモーター 84 によって支持され、レール 82 に沿ってスライド移動する。また、モーター 84 を使用して、ホルダー 44 及びそのホルダーにより保持されている場合にはカセットを、垂直軸の回りで回転させることもできる。

【0029】使用時、モーター 84 及びホルダー 44 をカラーセル 90 の上方の位置にまでスライドさせ、そして該カラーセルを回転させてカセットとホルダーの心合わせを行う。次いで、ホルダー 44 がカセットを掴み、そしてそのホルダーとモーター 84 を図 3 の右方へスライドさせてそのカセットを画素アレイ 60 の直接前方の位置にまで移動させる。カセットの所望の映像化が完了した後、ホルダー 44 とモーター 84 をさらにレール 82 に沿って移動させ、カセットを映像化位置の外側へ移動させる。カセットは、廃棄用受け器 102 に保管しておいても、又、カセットを別の場所に移動し、後の使用のために貯蔵しておいてもよい。カセットが装置 30 の内部で移動する際、具体的には、カセットがカラーセル 90 からフレーム 84 へ移動する際にカセットの識別を助長するために、バーコードリーダー 104 を設けてもよい。

【0030】照明二次装置 34 は、一対の蛍光灯 50 及び 52 を含むことが好ましいが、フレーム 84 の中のカセットを通して光をイメージング二次装置 36 の上、具体的には画素アレイ 60 の上に向ける。その後画素アレイは、画素アレイ上に形成された照明映像を代表する一連の信号を発する。より具体的には、画素アレイ 60 がカメラハウジング 62 の内部に配置されており、その画素アレイは多数の光センサーを含んで成る。その光センサーの各々は、そのセンサーに入射する光の強度に比例

した又は該強度を代表する大きさの電流をそれぞれ発生することができる。これらの光センサー、又は画素は、均一に間隔を置いて並べられた一定数の列及び欄からなる均一グリッドとして配置されている。

【0031】レンズ 66 及びフィルター 70 は、画素アレイ 60 の前方に配置され且つ、互いに及び画素アレイに同軸的に整合されている。レンズ 66 は、画素アレイがこのレンズの後部焦点面に位置するように配置される。好ましくは、レンズ 66 及びフィルター 70 は、カメラ 62 の前端部に取り付けられるハウジング 72 の内部に搭載される。

【0032】図 5 は、処理二次装置 40 を詳細に説明する構成図である。この二次装置では、カメラ 62 内の画素アレイからの電気信号をブレブロッサッサー 74 へ送る。該ブレブロッサッサーは、例えば、Begium の Euresys SA 製のイメージプロセッシングボードであることができる。次いで、このイメージプロセッサ 74 は、アレイ 60 の各画素からの電気信号をそれぞれ一つのデジタルデータ値へ変換し、そしてそのデータ値を、該電気信号を発した画素のアドレスと関連するアドレスを有するメモリー位置に記憶する。イメージプロセッサ 74 へ伝送される電気信号は、その信号を発した特定の画素により適当な方法で識別することができる。

【0033】イメージプロセッサ 74 に記憶されたデータ値はメインプロセッサ 76 で使用可能である。メインプロセッサはイメージプロセッサに接続されており、データ値をイメージプロセッサから得たりイメージプロセッサへ伝送したりする。以下詳細に説明するように、プロセッサ 76 は、イメージプロセッサ 74 に記憶されたデータ値を処理、分析するためにプログラムされている。

【0034】好ましくは、メインプロセッサ 76 は、さらにキーボード 80 及び端末 106 を有するパーソナルコンピュータ又はその部品である。キーボード 80 をプロセッサ 76 に接続することによりオペレーターはそれに入力することができ、また端末 106 を使用してプロセッサに入力されたデータ又はメッセージを目に見えるように表示する。さらに、モニター 110 をプロセッサ 76 に接続して、データプロセッサ 76 又はイメージプロセッサ 74 に記憶されたデータ値からビデオ画像を得ることもできる。プリンター 112 をプロセッサ 76 に接続し、プロセッサからプリンターへ伝送された特定のデータ値の目に見える永久記録を得ることができる。

【0035】当業者であれば理解されるように、装置 30 及びその部品には、本明細書には具体的に記載されていないその他の又は追加の装置を設けることができる。また、装置 30 は、校正カセット 10 を使用することができる装置の一例を示したものにすぎず、本カセットは他の装置においても使用可能であることに留意すべきで

ある。

【0036】本発明は校正装置30に関し、その実施に好適な手順を図6、図7及び図8に示す。この好適な校正法では、図6の工程120、122及び124が示すように、校正カセット10をカラーセル内のスロット90aに入れ、そのカラーセルを回転させてそのスロットをムーバ94の位置に整合させる。次いで、ムーバ94がカセット10を掴み、そしてそのカセットを画素アレイ60の前方の位置に移動し、そこでそのカセットを保持する。照明二次装置34が光のビームをカセット

10を通して画素アレイ60の上に向ける。映像獲得プログラムがカメラ62に同期信号を送り、画素アレイ60の上にカセットの映像を得た後、その映像はイメージプロセッシングボード74により奪われ、デジタル化された信号へ変換される。

【0037】カセット内のカラム数及び必要な映像解像度に依存して、単一のカセットについて一又は二以上の映像を撮る場合がある。例えば、装置30を使用して試験カセットを分析する場合、6本のマイクロカラムを有するカセットの各面について3つの映像を撮ること、すなわち、単一のカセットについて全部で6つの映像を撮り、各映像が二つのカラムを有することができる。従って、校正カセット10の場合、第一の走査位置において撮った第一の映像が反応画像22a及び22bを含有し、第二の映像がグレースケール16に相当し、そして第三の映像が反応画像22c及び22dのためのものとなる。

【0038】イメージングボード74が校正カセット10の映像の獲得に成功した後、ソフトウェアプログラムを開始して映像データを処理し且つ画像処理装置を調整する。図6の工程126及び130に示したように、焦点調整のオプションをオペレーターが選択した場合、校正プログラムが、校正カセット10の上に印刷された凝集体パターンを使用して、カメラレンズ66の焦点を測定する。カメラレンズ66の焦点が合っている場合には、凝集体の画素アレイ上での映像は鮮鋭な縁部を有する。この結果、そのような映像の縁部において画素から得られた映像強度のデータ値の派生物についての値は高くなる。対照的に、カメラの焦点がずれている場合には、凝集体の画素アレイ上での映像の縁部はぼけてしまい、そのような映像の縁部において画素から得られた映像強度値の派生物は低下する。

【0039】好適な調整方法では、プログラムが、一組の反応画像22a～22dの映像についての派生物の合計を連続して計算し、その合計値をコンピュータのモニター上に短時間のインターバルで表示し、その間、オペレーターがレンズ66をゆっくりと回転させる。その派生物が最高値に達した時、又は所望の範囲に達した時、最適な焦点に到達し、その調整を停止させることができる。

【0040】焦点の調整が完了した後、工程132及び134に示したように、プログラムが映像の解像度を測定し始める。この解像度は、所定のレンズ66の下、カメラ62とカセット10との間の距離に依存し、そして、映像の解像度は、映像に含まれる二つのカラムの境界のような二本の垂直線間の距離から計算することができる。この距離を測定するため、プログラムは、最初に、縁部検出プログラムを使用して二つの境界の位置を探索する。この目的のために使用可能な縁部検出法には様々なものがある。

【0041】好適な実施態様では、縁部検出プログラムはデリバティブ法に基づく。この方法では、最初にプログラムが映像フレームの左側と右側に二つのウィンドウを発生させ、二つのカラム境界をカバーする。次いで、各ウィンドウにおけるグレー値を投影して一次元ベクトルにする。各ベクトル上の各点において、その点を通る垂直線におけるすべての画素のグレー値を加えることによって投影値を得る。これらのグレー値の合計値のデリバティブを決定し、その最高値を得る。これらの最高デリバティブ値はグレースケールの最大変動量に相当するため、二つの境界の場所が決定される。

【0042】二つのカラムの境界の場所が見つかった後、これら二つの境界の間の距離を計算することができる。この距離が所定の範囲内でない場合には、プログラムが、カメラ位置の調整が必要であることを指示する。二つのカラムの境界の間の距離が所定の下限値よりも小さい場合には、カメラ62をカセット10の方へ近づけるように移動させて映像の解像度を高める必要がある。二つのカラムの境界の間の距離が所定の上限値よりも大きい場合には、カメラ62をカセット10から遠ざけるように移動させて映像の解像度を低下させる必要がある。この調整工程では、プログラムが連続的に二つのカラムの境界の間の距離を決定し、これらの距離の値をコンピュータのモニター上に示すことが好ましい。オペレーターが、これらの値を読み取り、所望の距離に達するまでカメラをカセットの方へ又はカセットから遠ざけるようにゆっくりと移動させることもできる。

【0043】カセットの映像の画素アレイ60の上での焦点は、カメラ62と画素アレイとの間の距離に依存するので、図6の工程136に示したように、カメラを画素アレイから好適な距離をおいて配置した後にカメラレンズ66の焦点を再調整する必要がある、さらに上記したカセット映像の焦点を合わせるための手順を繰り返すことにより、再度その映像の焦点を合わせることが好ましい。この焦点の再調整後、工程140に示したように、校正プログラムが、ムーバ94がカセットを保持してカセットの映像を画素アレイ上に生ぜしめる異なる走査位置を調整し始める。この調整は、映像フレーム内のカラムの対称配置に基づき、またこれらのカラムは適

当な縁部検出方法により配置される。

【0044】例えば、上記したものと同様な縁部検出手順を使用してこれらカラムの場所を決めることができる。好ましくは、これらの走査位置の調整を、ムーバー94を制御するステッパモーターに命令を送るデータ処理装置によって自動的に実施する。これらの命令はステッパモーターを作動させ、問題のカラムが映像フレームの中心に対して対称的に配置されるように校正カセット10を移動させる。この調整が完了した後、カセット10の位置を記録し、そしてこの位置を基準にして血液試料の分析中の試験カセットの内部配置を行う。

【0045】工程142に示したように最初の走査位置調整を完了した後、工程144において、校正カセットを次の走査位置まで移動させる。この第二の走査位置は、工程146及び150に示したように、上記した方法と同一又は類似の方法により測定され且つ調整されることができる。別法として、第二の走査位置を、第一の走査位置の既知の場所に基づき数学的に計算することもできる。

【0046】次いで、工程152において、最適な映像の強度及びコントラストを得るために、イメージングボード74のゲイン及びオフセットをプログラムが調整する。この調整を完了するため、写真用スケール16の領域及び不透明白色領域20を画素アレイ上に投影して映像を形成させる。写真用スケール16の7枚のストリップ16a~16gの各々の映像に含まれる画素のグレー値を測定する。これらのグレー測定値に基づき、写真用スケールの映像における画素のグレー値が所望の値又は範囲に達するまで、イメージングプロセッシングボード74の電氣的ゲイン及びオフセットを徐々に調整する。

【0047】例えば、実際に実施化された本発明の実施態様では、4種類の光学濃度レベルは2、5、0.4、0.19及び0.09である。好適な調整値の下では、これら4種の光学濃度値に対応する映像の強度レベルは、それぞれ0.82、1.40及び1.80となる。イメージング装置の校正では、強度レベルが上記の値に等しくなるか又は非常に近くなるように、イメージングボードのゲイン及びオフセットを調整する。

【0048】写真用スケールの映像における画素についてのこれらのグレー測定値は、主として、校正カセット10の画素アレイ60とは反対側に配置されたランプによって測定される。校正カセットの画素アレイと同じ側にあるランプの状態を検査するため、不透明白色領域20の映像における画素についてのグレー値を測定する。このグレー値が所望の範囲内にある場合、プログラムはオペレーターにランプの状態は良好である旨の信号を送る。しかしながら、このグレー値が所望の範囲から外れている場合には、プログラムはエラーメッセージを表示し、オペレーターにランプの交換を要請する。

【0049】ゲイン及びオフセットの調整並びにランプの検査が完了した後、工程154に示したようにカセッ

トの追加の走査位置を調整してもよい。具体的には、校正156において校正カセット10を第三の走査位置に移動し、この第三の走査位置を工程160において、第一の二つの走査位置の調整に用いた方法と同一又は類似の方法を用いて調整する。次に、工程162においてカセット10を180°ターンさせ、そして工程164及び166に示したように、第一及び第二の走査位置の調整に用いた方法と同一又は類似の方法を用いて第四の走査位置を調整する。次いで、工程170及び172に示したように、そのカセットを180°ターンして第一の走査位置に戻す。カセット10の第五及び第六の走査位置を調整するために測定を行う必要はない。というのは、これら後者の二つの走査位置についての具体的な場所は、既に決められた走査位置から計算できるからである。

【0050】正確な走査位置の決定により調整手順は完了し、これが行われたならば、その調整の結果及び凝集分析についてのソフトウェアの性能を検査する。これを実施するため、校正カセット上の22a~22dに印刷された反応をプログラムが読み取り、その結果を確認する。この確認を行うため、工程172において、校正カセット10を第一の走査位置まで移動し、そして第一の二つの反応カラム22a及び22bの映像を画素アレイ60の上に発生させる。各反応カラムの映像における画素についてのデータ値は、工程174において、例えば、同時係属米国特許出願第08/163,996号（発明の名称「凝集反応を分類するための方法及び装置 (Method and System for Classifying Agglutination Reactions)」)に記載されているような所定の画像処理プログラムによって処理される。具体的には、この映像データを分析することにより、画像処理プログラムは凝集反応に直接関連する特性、例えば、(1)細胞ベレットの大きさ、(2)細胞ベレットの境界の形状、(3)カラム内での赤血球細胞凝集体の場所及び大きさ、及び(4)カラム内での赤血球細胞の端間バランス、を抽出する。

【0051】これらの特性値が得られたら、反応分類プログラムと呼ばれるソフトウェアにより、一組の特性値を、複数の所定の反応分類、例えば、陽性、陰性、中間又は特殊型反応の一つに変換する。陽性反応をさらに+0、+1、+2、+3又は+4反応のように分類してもよい。また、特殊反応をさらに分類すること、或いはより具体的に、例えば、溶血、混合場として、又は細胞添加量が過多若しくは過少であった反応として、識別することもできる。

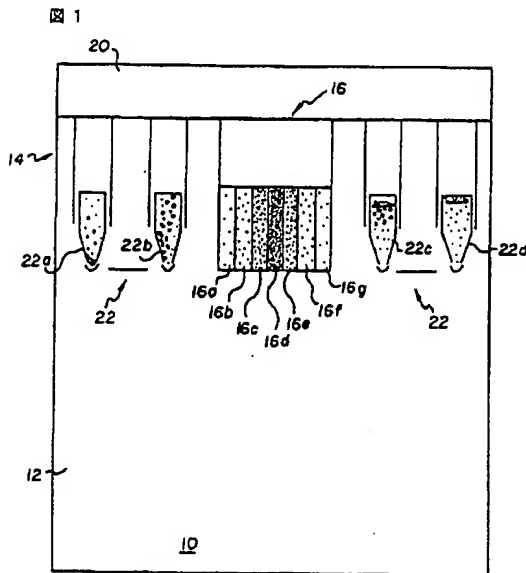
【0052】最初の二つの反応画像22a及び22bを確認した後、工程176において、校正カセット10を第三の走査位置に移動し、そして残る二つの反応画像22c及び22dから映像データを発生させる。この反応映像データは、工程180において、同じ映像データ処

理プログラムによって処理され分類される。カセット 10 は、工程 182 に示したように、カローセル 90 に戻すことができる。4 種類すべての反応画像の分析が終了した後、プログラムが、得られた特性値及び 4 種の反応の反応分類を所定の既知の値と比較する。

【0053】校正カセットの反応映像 22a~22d から抽出された特性値が必要な範囲内にあり且つ反応が正確に分類されている場合には、校正手順は完了し、そしてプログラムが装置 30 は実際の試料の試験に用いられる準備ができていた旨の信号をオペレーターに送る。一又は二以上の特性値が関連する所望の範囲から外れているか若しくは間違った分類が得られた場合又はその両方の場合、オペレーターは、校正カセット 10 又は映像処理装置 30 における欠陥について検査を行い、校正手順全体を繰り返すことができる。再度エラーが発生した場合には、オペレーターは分析装置 30 を使用しないよう注意を喚起し、そして装置のサービス、メンテナンス又は修理を要請することができる。

【0054】本明細書で詳細に説明した手順は、単なる校正を実施するための方法ではないことに留意すべきである。例えば、校正工程の特性の順序を変更した場合、又は別の画像処理法を使用した場合でも、同じ目的を達*

【図 1】



* 成することができる。本明細書に記載した本発明は上記目的を満たすべく十分に計算されていることが明らかであるが、当業者であれば様々な変更態様を考案し得ることが認識され、また、添付の特許請求の範囲は、本発明の真正なる精神及び範囲に包含されるこのような変更態様をすべて包含することを意図するものである。

【図面の簡単な説明】

【図 1】自動化された凝集反応分析装置を校正するために用いることができる校正カセットを示す。

【図 2】校正カセット上の異なる凝集パターンを示す。

【図 3】自動化された凝集反応分析装置の概略図である。

【図 4】図 3 の装置のいくつかの部品を示す構成図である。

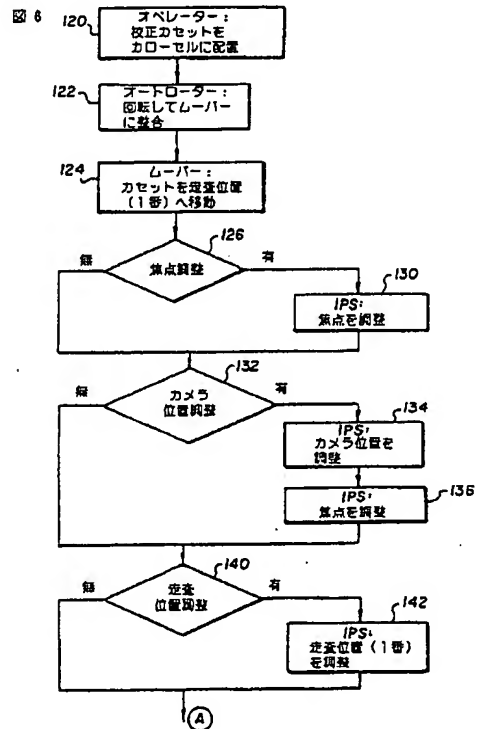
【図 5】図 3 の分析装置の処理二次装置を詳細に示す構成図である。

【図 6】図 1 のカセットを用いて図 3 及び図 4 の分析装置を校正するための手順を示すフローチャートである。

【図 7】図 1 のカセットを用いて図 3 及び図 4 の分析装置を校正するための手順を示すフローチャートである。

【図 8】図 1 のカセットを用いて図 3 及び図 4 の分析装置を校正するための手順を示すフローチャートである。

【図 6】



【図2】

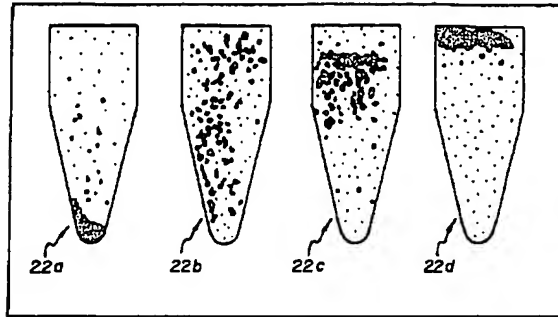


図 2

【図3】

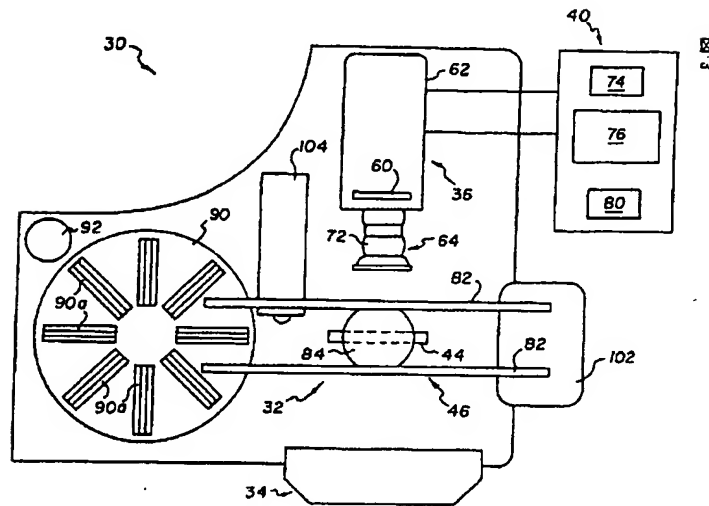


図 3

【図4】

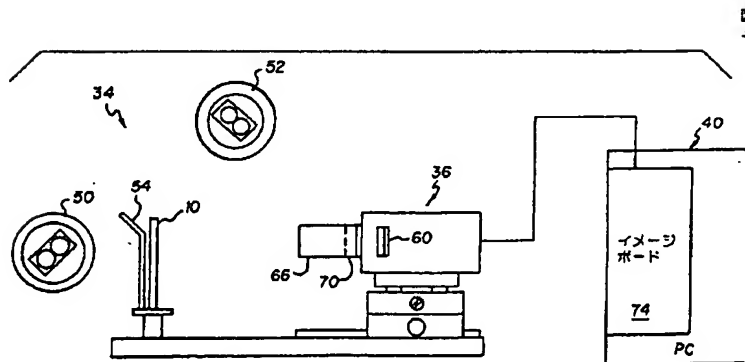
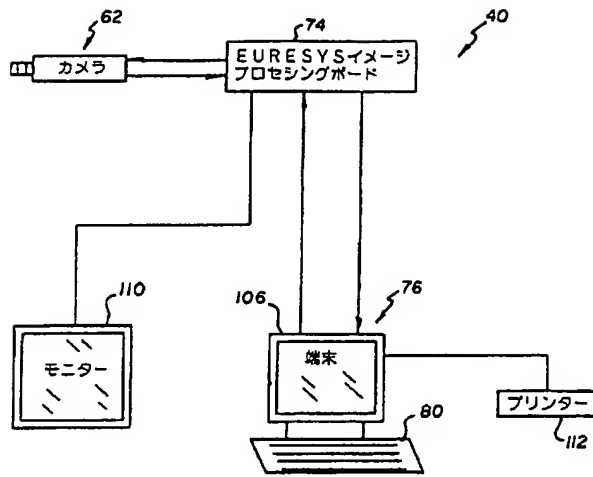
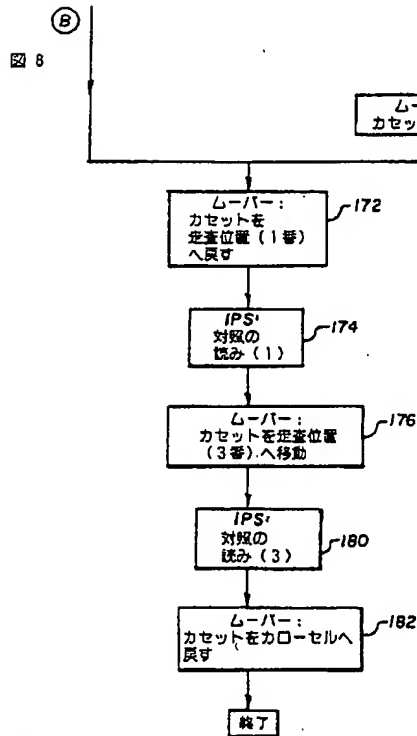


図 4

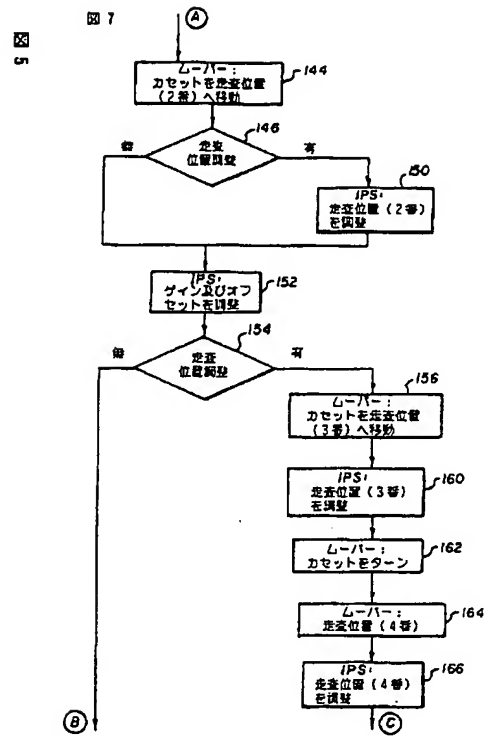
【図5】



【図8】



【図7】



【外国語明細書】

1. Title of Invention

METHOD AND APPARATUS FOR CALIBRATING IMAGING SYSTEMS
FOR ANALYZING AGGLOUTINATION REACTIONS

2. Claims

1. A method for calibrating a system for analyzing aqueous solutions, said system including a pixel array and a variable focus lens for focusing onto the pixel array illuminated images of the aqueous solutions, the method comprising the steps of:

providing a calibration device having a pattern thereon;

illuminating said pattern to form an illuminated image thereof;

directing said illuminated image through the lens and onto the pixel array;

deriving data values representing the image on the pixel array; and

using said data values to adjust the focus of the lens and to adjust the position of the calibration device relative to the pixel array.

2. A method according to Claim 1, wherein the using step includes the steps of:

using said data values to determine a value for a predefined parameter representing a degree of focus of said image on the pixel array; and

adjusting the focus of the lens until the predefined parameter reaches a predefined value range.

3. A method according to Claim 1, wherein the using step includes the steps of:

using said data values to determine a value for a predefined parameter representing a resolution of the image on the pixel array; and

adjusting the distance between the calibration device and the pixel array until the predefined parameter reaches a predefined value range.

4. A method according to Claim 3, wherein:
the pattern on the calibration device
includes first and second parallel edges;
the image of said pattern on the pixel array
includes images of said first and second edges;
the using step includes the step of using
said data values to determine a distance between the
images on the pixel array of said first and second
edges;

the adjusting step includes the step of
adjusting the distance between the calibration device
and the pixel array until the distance between said
images of the first and second edges reaches a
predefined value range.

5. A method according to Claim 1, wherein
the using step includes the step of using said data
values to adjust a lateral position of the calibration
cassette.

6. A method according to Claim 5, wherein
the step of using said data values to adjust the
lateral position of the calibration cassette includes
the step of adjusting the lateral position of the
calibration cassette until the image of the pattern on
the calibration cassette reaches a predefined position
on the pixel array.

7. A method according to Claim 6, wherein
the system further includes means to hold the cassette
in a range of positions, and moving means to move the
cassette across said range, and wherein the step of
adjusting the lateral position of the cassette includes
the steps of:

using said data values to generate a signal
indicating the position of the image on the pixel array
relative to the predefined positions; and

transmitting said signal to the moving means to operate the moving means to move the calibration cassette and to move the image on the pixel array toward the predefined position.

8. A method according to Claim 1, wherein:
the deriving step includes the step of using an analog-to-digital converter to derive digital data values representing the image on the pixel array;

the pattern on the calibration device includes a plurality of areas having different optical densities; and

the method further includes the step of using said areas of the pattern to calibrate the analog-to-digital converter.

9. A method according to Claim 1, wherein:
the deriving step includes the steps of

i) generating analog signals representing the images on the pixel array, and

ii) using an analog-to-digital converter to convert the analog signals to digital data values representing the image on the pixel array; and

the using step includes the step of using said digital data values to calibrate the analog-to-digital converter.

10. A method according to Claim 9, wherein:
the pattern on the calibration device includes a plurality of areas having different optical densities;

the directing step includes the step of forming an image of said areas on the pixel array;

the deriving step includes the step of deriving a set of digital data values representing the image of said areas on the pixel array; and

the step of using said data values to calibrate the analog-to-digital converter includes the step of calibrating said convertor by using the digital data values representing the image of said areas on the pixel array to calibrate the analog-to-digital converter.

11. A method according to Claim 9, wherein:
the step of using the analog-to-digital converter to convert the analog signals to digital data values includes the step of using the analog-to-digital converter to convert the analog signals to digital data values according to a predetermined adjustable conversion program having an adjustable variable; and

the step of using said digital data values to calibrate the analog-to-digital converter includes the step of using said digital data values to adjust said adjustable variable to obtain a predefined correlation between the digital values produced by the analog-to-digital converter and the known digital values associated with the pattern on the calibration device.

12. A method according to Claim 11, wherein the step of using said digital data values to adjust said adjustable variable includes the step of selectively adjusting gain and offset factors associated with the pixels to obtain the predefined correlation between the processed digital values and said known digital values.

13. A method according to Claim 1, wherein the using step includes the step of using said data values to re-adjust the focus of the lens after the position of the pixel array relative to the calibration device is adjusted.

transmitting said signal to the moving means to operate the moving means to move the calibration cassette and to move the image on the pixel array toward the predefined position.

8. A method according to Claim 1, wherein:
the deriving step includes the step of using an analog-to-digital converter to derive digital data values representing the image on the pixel array;

the pattern on the calibration device includes a plurality of areas having different optical densities; and

the method further includes the step of using said areas of the pattern to calibrate the analog-to-digital converter.

9. A method according to Claim 1, wherein:
the deriving step includes the steps of

i) generating analog signals representing the images on the pixel array, and

ii) using an analog-to-digital converter to convert the analog signals to digital data values representing the image on the pixel array; and

the using step includes the step of using said digital data values to calibrate the analog-to-digital converter.

10. A method according to Claim 9, wherein:
the pattern on the calibration device includes a plurality of areas having different optical densities;

the directing step includes the step of forming an image of said areas on the pixel array;

the deriving step includes the step of deriving a set of digital data values representing the image of said areas on the pixel array; and

the step of using said data values to calibrate the analog-to-digital converter includes the step of calibrating said convertor by using the digital data values representing the image of said areas on the pixel array to calibrate the analog-to-digital converter.

11. A method according to Claim 9, wherein:
the step of using the analog-to-digital converter to convert the analog signals to digital data values includes the step of using the analog-to-digital converter to convert the analog signals to digital data values according to a predetermined adjustable conversion program having an adjustable variable; and
the step of using said digital data values to calibrate the analog-to-digital converter includes the step of using said digital data values to adjust said adjustable variable to obtain a predefined correlation between the digital values produced by the analog-to-digital converter and the known digital values associated with the pattern on the calibration device.

12. A method according to Claim 11, wherein
the step of using said digital data values to adjust said adjustable variable includes the step of selectively adjusting gain and offset factors associated with the pixels to obtain the predefined correlation between the processed digital values and said known digital values.

13. A method according to Claim 1, wherein
the using step includes the step of using said data values to re-adjust the focus of the lens after the position of the pixel array relative to the calibration device is adjusted.

14. A method according to Claim 1, wherein the system further includes a light source for illuminating the aqueous solutions, and wherein the using step includes the step of using the data values to identify a condition of the light source.

15. A method according to Claim 1, wherein the system further includes a light source for illuminating the aqueous solutions, and the pattern on the calibration device includes a defined area for reflecting light, and the method further includes the step of using said defined area on the calibration device to identify a condition of the light source.

16. A method for checking a program for analyzing aqueous solutions, for use with an analysis system including a pixel array and an illumination subsystem for forming illuminated images of the aqueous solutions on the pixel array, the method comprising the steps of:

providing a calibration device including a defined area representing at least one aqueous solutions having a known value for at least one given, associated parameter;

forming an illuminated image of said defined area on the pixel array;

deriving data values representing the image on the pixel array;

using the program to process said data values to determine a value for the given parameters associated with the aqueous solution represented by said defined area; and

comparing said determined value with said known value to assess a condition of the program.

17. A method according to Claim 16, wherein:
the given parameter is a reaction
classification;

said one aqueous solution has a known
reaction classification;

the step of using the program to determine a
value for the given parameter includes the step of
determining a reaction classification for the one
aqueous solution; and

the comparing step includes the step of
comparing the determined reaction classification with
the known reaction classification to assess said
condition of the program.

18. An article of manufacture for
calibrating a system for analyzing agglutination
reactions, the article of manufacture comprising:

a base having at least first and second,
transparent areas;

a plurality of reaction images on the first
transparent area of the base, each of said reaction
images showing results of an agglutination reaction;
and

a gray scale on the second transparent area
of the base, the gray scale including a plurality of
strips having different optical densities.

19. An article of manufacture according to
Claim 18, wherein the base includes a third, opaque
area for reflecting light.

20. An article of manufacture according to
Claim 18, wherein the plurality of reaction images
includes four reaction images showing results of four
different agglutination reactions.

21. A system for analyzing agglutination reactions, comprising:

means for holding cassettes having at least one aqueous solution showing results of an agglutination reaction;

a calibration cassette positioned in the holding means, the calibration cassette including

i) a base, and

ii) a pattern on the base;

a pixel array;

an illumination subsystem to illuminate the calibration cassette and to produce an illumination image of the pattern on the calibration cassette;

a variable focus lens to focus the illuminated image of said pattern onto the pixel array; and

a processing subsystem to derive data values representing the illuminated image of said pattern on the pixel array and to process said data values according to a predetermined program to determine a value for a first parameter representing a degree of focus of the illuminated image of said pattern on the pixel array, and to determine a value for a second parameter representing a position of the calibration cassette relative to the pixel array.

22. A system according to Claim 21, wherein: the holding means includes

i) a holder holding the calibration cassette, and

ii) a motor to move the holder and the calibration cassette toward and away from the pixel array; and

the processing subsystem includes means to generate a signal and to conduct said signal to the motor (i) to move the holder and the calibration cassette toward the pixel array when the value for the second parameter is above a given value range and (ii) to move the holder and the calibration cassette away from the pixel array when the value for the second parameter is below the given range.

23. A system according to Claim 21, wherein the processing subsystem processes said data values according to the predetermined program to determine a value for a third parameter representing a lateral position of the calibration cassette relative to the pixel array.

24. A system according to Claim 23, wherein: the holding means includes moving means to move the calibration cassette laterally relative to the pixel array; and

the processing subsystem includes means to generate a signal and to conduct the signal to the moving means to operate said moving means to move the calibration cassette to a predefined lateral position.

25. A system according to Claim 21, wherein: the pattern on the calibration cassette includes at least one area representing an agglutination reaction, said agglutination reaction having known values for a defined set of parameters; and

the processing subsystem includes

- i) means to process said data values to determine values for the defined set of parameters,
- ii) means to compare said determined values with said known values, and
- iii) means to indicate whether a predefined correlation exists between said determined values and said known values.

26. A system according to Claim 21, wherein:
the pixels of the pixel array generate
electric signals representing the illuminated image of
said pattern on the pixel array; and

the processing subsystem includes

i) an analog-to-digital converter to
receive said electric signals and to convert the
electric signals to digital data values according to a
predetermined conversion program having an adjustable
variable, and

ii) means to adjust said adjustable variable
to obtain a predefined correlation between the digital
values produced by the analog-to-digital converter and
known digital values associated with the pattern on the
calibration device.

3. Detailed Description of Invention

This invention generally relates to systems that use automated image processing techniques to detect and quantify agglutinates formed in response to immunological agglutination reactions. More particularly, the present invention relates to methods and apparatus for calibrating such systems.

Immunological agglutination reactions are used to identify blood types and to detect antibodies and antigens in blood samples and other aqueous solutions. In a conventional procedure, a sample of red blood cells is mixed with serum or plasma in test tubes or micro plates, and the mixture is then centrifuged. Commonly, but not necessarily, the mixture is also incubated before being centrifuged. Various reactions either occur or do not occur in the mixture depending on, for example, the blood type of the red blood cells, or whether certain antibodies are present in the blood sample.

Typically, these reactions manifest themselves as clumps of cells or particles, referred to as agglutinates, having antigens and antibodies on their surfaces. The absence of any such clumps thus indicates that no reaction has occurred, and the presence of such clumps indicates that a reaction has occurred. In addition, if a reaction has occurred, then the size and amount of the formed clumps are quantitative indicators of the level or concentration in the sample of the complex for which the blood sample was tested. The size and amount of the formed clumps are also quantitative indicators of the affinity of that complex for the reagent used to produce the reaction.

Recently, a new agglutination test method --referred to as column agglutination technology, or CAT-- has been developed. Column agglutination technology may be defined as the analysis of blood and blood products utilizing filtration as a means of separating agglutinated, precipitated, absorbed, or adsorbed particulate components from non reactive components for immunoassay applications. In this method, gel or glass bead micro particles are contained within a small column, referred to as a microcolumn. A reagent such as anti-IgG is dispensed in a diluent in the microcolumn and a test red blood sample is placed in a reaction chamber above the column. The column, which is typically one of a multitude of columns formed in a transparent cassette, is then centrifuged.

The centrifuging accelerates the reaction, if any, between the reagent and the blood sample and also urges the cells of the blood sample toward the bottom of the column. The glass beads or gel in the microcolumn act as a filter, however, and resist or impede downward movement of the particles in the column. As a result, the nature and distribution of the particles in the microcolumn after centrifuging provide a visual indication of whether any agglutination reaction occurred in the microcolumn, and if so, of the strength of that reaction.

In particular, if no agglutination reaction occurs, then all or virtually all of the cells of the blood sample in the microcolumn pass downward during centrifuging to the bottom of the column, and these cells form a pellet at that bottom. In contrast, if there is a very strong reaction between the reagent and the blood sample, virtually all of the cells of the sample agglutinate, and large agglutinates form at the top of the microcolumn, above the gel or glass beads contained therein. The gel or glass beads prevent the

agglutinates from passing to the bottom of the column during centrifuging, so that after centrifuging, the agglutinates remain above the gel or beads.

If there is a reaction between the reagent and the blood sample, but this reaction is not as strong as the above-described very strong reaction, then some but not all of the cells of the blood sample agglutinate. The percentage of the cells that agglutinate and the size of the agglutinated particles both vary directly with the strength of the reaction. During centrifuging, the unreacted cells pass to the bottom of the column, and the distance that the agglutinated particles pass downward through the column depends on the size and number of the particles. Hence, the size of the pellet of cells at the bottom of the microcolumn, and the extent to which the agglutinates penetrate into the gel or glass beads in the microcolumn, are both inversely related to the strength of the reaction between the reagent and the blood sample.

Conventionally, an agglutination reaction pattern is classified as either negative or positive, and if positive, the reaction is then further classified into one of a series of classes depending on the strength of the reaction. Traditionally, the classification is done by a human technician or operator who observes, or reads, the reaction pattern in the column. The use of human technicians for this purpose has several disadvantages. For example, the technicians need to be highly skilled and trained to read and to classify the reactions properly. Also, even with highly skilled and trained technicians, the classifications are subject to human interpretation, and as a result, it is believed that the consistency and reproducibility of the classifications can be improved. Because of these disadvantages, efforts have

been made to automate the classification of the agglutination reactions.

One automated system for reading and classifying agglutination reactions in microcolumns is disclosed in copending application no. 08/163,996 for "Method and System For Classifying Agglutination Reactions." The method disclosed in this copending application is based on a computerized imaging system.

In accordance with this method, an image of an agglutination reaction is formed on an array of pixels, and those pixels generate electric charges that are converted to digital data values. These data values are then processed according to a predetermined program to determine if an agglutination pattern is present in the image, and, if so, to classify that pattern into one of a plurality of predefined classes. In order to obtain consistent test results with this system, it is desirable to calibrate the system regularly.

An object of the invention is to calibrate an imaging system used for analyzing solutions for agglutination patterns.

Another object of the present invention is to provide a procedure for adjusting solution imaging systems to generate the images with consistent intensity and contrast and for verifying the performance of the system hardware and software.

A further object of this invention is to provide a calibration cassette, which is used for analyzing solutions for agglutination patterns, with a photographic gray scale to determine and adjust the dynamic range of the imaging system, and with printed images of agglutination reactions to verify the system and the system software.

These and other objectives are obtained with a method for calibrating a system for analyzing aqueous solutions and that includes a pixel array and a variable focus lens for focusing illuminated images of the aqueous solutions onto the pixel array. The method includes the steps of providing a calibration device having a pattern thereon; illuminating that pattern to form an illuminated image thereof, and directing that illuminating image through the lens and onto the pixel array. The method includes the further steps of deriving data values representing the image on the pixel array, and using those data values to adjust the focus of the lens and to adjust the position of the calibration device relative to the pixel array.

Preferably, the calibrating device includes printed images of different agglutination reactions and a photographic gray scale including a plurality of strips having different optical densities. The gray scale may be used to determine and adjust the dynamic range of the imaging system. The agglutination reaction images may be used to determine scan positions for the test cassettes and to verify the imaging equipment and the software of the image analysis system. The procedure and the calibration device of this invention can also be used in the regular quality control of the imaging system and to monitor the long term stability of the system.

Further benefits and advantages of the invention will become apparent from a consideration of the following detailed description given with reference to the accompanying drawings, which specify and show preferred embodiments of the invention.

Figure 1 shows calibration cassette 10 comprising base or body 12 and an image pattern 14 formed thereon. Preferably, cassette 10 is manufactured by printing pattern 14 on a transparent material such as glass. With the preferred embodiment of cassette 10 shown in Figure 1, the image pattern 14 includes a photographic gray scale 16 that, in turn, includes multiple strips 16a, 16b, 16c, 16d, 16e, 16f and 16g having different optical densities, an opaque white area 20 that reflects incident light and blocks transmitting light, and an area 22 including pictures 22a, 22b, 22c and 22d of four agglutination reactions typically seen in a microcolumn. A holder (not shown) may be fixed to the top side of cassette 10 and used to help move the cassette. In particular, this holder may be used to connect the cassette to, or to mount the cassette on, an automated mover that, in turn, is used to move the cassette.

In the calibration process, described in greater detail below, an illuminated image of the calibration cassette is produced on an array of pixels.

These pixels generate electric charges representing the light intensity pattern of the illuminated image on the pixel array, and these electric charges are converted to digital data values. These data values are then processed according to a predetermined program; and on the basis of information found in the image, the program will either automatically adjust the system or signal the operator to request a manual adjustment.

The photographic gray scale 16 is used to adjust the gain and offset values of an imaging board, discussed in greater detail below, in order to obtain consistent intensity and contrast in the images. More specifically, as mentioned above, the photographic scale 16 includes multiple strips 16a-16g of different optical density values. The optical density (OD) of a strip is defined as: $OD = \log (I_i/I_t)$, where I_i is the intensity of incident light and I_t is the intensity of transmitted light. Thus, a high optical density value corresponds to a low percentage of light transmission, and a low optical density value corresponds to a high percentage of light transmission.

The values chosen for the optical densities of strips 16a-16g may be selected on the basis of the desired dynamic range for the data values representing the intensity of the image on the pixel array. In an imaging system used for blood analysis, the pixels in the image of the red blood cells may be given low values, and the pixels in the brightest area of the cassette image may be given high values. For instance, if the pixels are assigned data values between 0-255, the pixels in the image of the red blood cells may be assigned a value of 10, and the pixels in the brightest

area of the cassette image may be assigned a value of 245. This intensity range provides an excellent contrast without the saturation of that image intensity.

To adjust the gain and offset of the imaging board, a minimum of two strips with two different optical densities are required. However, in order to test the linearity of the light conditions, more strips of different optical densities are preferably used. For example, in an embodiment that has been actually reduced to practice, gray scale 16 includes seven strips 16a-16g having four different optical density levels: 2.5, 0.44, 0.19 and 0.09.

Strips 16a-16g may be arranged on the calibration cassette 10 in a variety of specific patterns. In a preferred embodiment, these strips are parallel to each other and form a row. The strip with the highest optical density is placed in the middle of that row, and the other strips are positioned about that strip with the optical densities of the strips decreasing in the direction extending away from that middle strip and with corresponding strips on the left and right sides of that middle strip having equal optical densities. In particular, the two strips 16c and 16e having the second highest optical density are located immediately to the left and right of the middle strip 16d, the two strips 16b and 16f having the third highest optical density are located immediately outside of strips 16c and 16e, and the two strips 16a and 16g having the lowest optical density are located on the left and right ends of the row of strips. This arrangement of strips is useful to test the symmetry of the light conditions in the imaging system.

Above the photographic scale 16 is the opaque white area 20. As mentioned above, this opaque area reflects the light incident from the side of cassette

on which the pixel array is located, but blocks the transmission of light from the opposite side. As discussed in greater detail below, by measuring the gray value of the image on the pixel array of this opaque region, the intensity of light from the pixel side of the cassette can be determined.

The calibration cassette also has four printed pictures 22a-22d of agglutination reactions. These pictures represent typical reactions that can be observed in the blood analysis with a CAT method. As discussed below, these pictures are used to verify the system and image processing software after the above-discussed adjustments are made.

Figure 2 shows image prints 22a-22d in greater detail. Reaction picture 22a represents a weak positive reaction that is normally classified as a +0.5 reaction. In this type of weak reaction, some of the cells in the blood sample agglutinate and form a few, small agglutinate particles; however, most of the sample cells do not react. During centrifuging, agglutinated particles become distributed in the lower half of the microcolumn, and the unreacted cells of the sample pass to the bottom of the column and form a pellet.

Reaction picture 22b represents a typical +2 reaction. In this reaction, a significant percentage of cells in the blood sample react and agglutinate. During centrifuging, the unreacted red pass through the column and form a small pellet in the bottom of the microcolumn, and agglutinated particles become distributed throughout the length of the column.

Reaction picture 22c shows a class +3 reaction in which most of the cells in the blood sample agglutinate and the agglutinated particles remain in the upper half of the microcolumn after centrifugation.

In a class +4 reaction, as shown in reaction picture

22d, all, or virtually all, of the cells in the blood sample agglutinate and form large agglutinates at the top of the filter in the microcolumn.

Figures 3 and 4 illustrate an image processing system 30 for analyzing and classifying agglutination reactions and that may be calibrated using cassette 10. System 30 is similar to the automated analysis system discussed in detail in copending application no. 08/163,996 and 08/075,028, the disclosure of which are herein incorporated by reference.

Generally, system 30 includes cassette positioning subsystem 32, illumination subsystem 34, imaging subsystem 36, and data processing subsystem 40, and preferably system 30 further includes storage subsystem 42. With the embodiment of system 30 shown in Figures 3 and 4, the cassette positioning subsystem includes cassette holder 44 and transport assembly 46, and the illumination subsystem includes a pair of fluorescence lights 50 and 52 and diffuser 54. The imaging subsystem includes pixel array 60, housing 62 and lens assembly 64; and this lens assembly 64, in turn, includes lens 66, filter 70 and lens housing 72.

In addition, the preferred data processing subsystem 40 includes preprocessor 74, main processor 76 and input means such as keyboard 80.

Generally, positioning subsystem 32 is provided to position and to hold a cassette while an image of the cassette is formed on imaging subsystem 36, and illumination subsystem 34 is provided to produce that illuminated image of the cassette on the imaging subsystem. When this image is produced on the imaging subsystem, this subsystem generates a set of signals representing the illuminated image formed thereon. These signals are transmitted to data processing subsystem 40, and this subsystem receives

those signals and processes those signals according to a predetermined program. Storage subsystem 42 may be provided to store cassette 10.

More specifically, storage subsystem 42 includes rotatable carousel 90 and an indexing means, such as a stepper motor, schematically referenced at 92. Carousel 90 is located adjacent positioning subsystem 32, and the carousel forms a multitude of compartments or slots 90a for holding cassette 10 and the test cassettes. Stepper motor 92 is used to rotate carousel 90 through a series of positions to align the cassettes therein with holder 44 of positioning subsystem 32.

Transport assembly 46 of positioning subsystem 32 includes a pair of rails 82 and a motor 84. Left ends of the rails 82 are located above carousel 92, and the rails extend horizontally therefrom, to the right as viewed in Figure 3. Motor 84 is supported by rails 82 for sliding movement therealong. Holder 44 is provided to grip and to hold releasably the cassettes, and the holder is connected to and is supported by motor 84 for sliding movement therewith along rails 82. Motor 84 may also be used to rotate holder 44, and any cassette held by the holder, about a vertical axis.

In use, motor 84 and holder 44 are slid to a position over carousel 90, and the carousel is rotated to align a cassette with the holder. Holder 44 then grips the cassette, and the holder and motor 84 are slid to the right as viewed in Figure 3 to move that cassette into a position directly forward of pixel array 60. After the desired imaging of the cassette is completed, holder 44 and motor 84 are moved further along rails 82 to move the cassette out of the imaging position. The cassette may be deposited in a waste receptacle 102 or the cassette may be moved to another

location where the cassette may be stored for later use. A bar code reader 104 may be provided to help identify the cassettes as they are moved in system 30, and in particular, as those cassettes are moved from carousel 90 to frame 84.

Illumination subsystem 34, which preferably comprises a pair of fluorescence lamps 50 and 52, directs light through the cassette in frame 84 and onto imaging subsystem 36, and specifically onto pixel array 60, which then generates a series of signals representing the illuminated image formed on the pixel array. More specifically, pixel array 60 is disposed inside a camera housing 62, and the pixel array is comprised of a multitude of light sensors, each of which is capable of generating a respective one electric current having a magnitude proportional to or representing the intensity of light incident on that sensor. These light sensors, or pixels, are arranged in a uniform grid of a given number of uniformly spaced rows and columns.

Lens 66 and filter 70 are located forward of pixel array 60 and are coaxially aligned with each other and with the pixel array, and lens 66 is positioned so that the pixel array is at the back focal plane of this lens. Preferably, lens 66 and filter 70 are mounted inside housing 72, which is mounted on the front end of camera 62.

Figure 5 is a block diagram illustrating processing subsystem 40 in greater detail. In this subsystem, the electric signals from the pixel array in camera 62 are conducted to preprocessor 74, which may be, for example, an image processing board made by Eureysys SA of Belgium. This image processor 74 then converts the electric signal from each pixel of array 60 into a respective one digital data value and stores that data value in a memory location having an address

associated with the address of the pixel that generated the electric signal. The electric signals being transmitted to the image processor 74 may be identified in any suitable way with the specific pixel that generated the signal.

The data values stored in image processor 74 are available to main processor 76, which is connected to the image processor to obtain data values from and to transmit data values to that image processor. As explained in greater detail below, processor 76 is programed to process and to analyze data values stored in the image processor 74..

Preferably, main processor 76 is, or is a component of, a personal computer also having keyboard 80 and terminal 106. Keyboard 80 is connected to processor 76 to allow operator input thereto, and terminal 106 is used to display visually data or messages being input into the processor. In addition, monitor 110 may be connected to processor 76 to produce video images from the data values stored in the data processor 76 or in image processor 74. Printer 112 may be connected to processor 76 to provide a visual, permanent record of selected data values transmitted to the printer from the processor.

As will be understood by those of ordinary skill in the art, system 30 and the components thereof may be provided with other or additional devices not specifically described herein. Also, it should be noted that system 30 is only an example of a system in which calibration cassette 10 can be used, and this cassette may be used in other systems.

The present invention relates to calibrating system 30, and a preferred procedure for doing this shown in Figures 6, 7 and 8. In this preferred calibration process, and as represented by steps 120, 122 and 124 of Figure 6, calibration cassette 10 is

placed in a slot 90a in the carousel, and the carousel is rotated to align the slot into the position of the mover 94. The mover 94 then grips the cassette 10, and moves the cassette to, and holds the cassette in, a position in front of the pixel array 60. The illumination subsystem 34 directs a beam of light through the cassette 10 and onto the pixel array 60. The image acquisition program sends a synchronization signal to the camera 62 to produce an image of the cassette on the pixel array 60, and the image is then grabbed by the image processing board 74 and converted into digitized signals.

Depending on the required image resolution and the number of columns in a cassette, one or more images may be taken for a single cassette. For example, when system 30 is used to analyze test cassettes, three images may be taken of each side of a cassette that has six microcolumns; and therefore a total of six images may be taken for a single cassette with each image having two columns. Accordingly, for the calibration cassette 10, a first image taken at a first scan position contains the reaction pictures 22a and 22b, a second image corresponds to the gray scale 16, and a third image is for the reaction pictures 22c and 22d.

After the imaging board 74 successfully obtains the image of the calibration cassette 10, the software program starts to process the image data and to adjust the image processing system. As represented by steps 126 and 130 of Figure 0, if a focus adjustment option is selected by the operator, then the calibration program measures the focus of the camera lens 66 using the agglutinate pattern printed on the calibration cassette 10. If the camera lens 66 is on focus, the image of the agglutinates on the pixel array has sharp edges. This results in high values for the

derivative of the image intensity data values obtained from the pixels in those image edges. In contrast, if the camera is out of focus, the edges of the image of the agglutinates on the pixel array are blurred, and the derivative values of the image intensity values obtained from the pixels in those image edges are decreased.

In the preferred adjustment process, the program continuously calculates the sums of the derivative values for the images of a pair of the reaction pictures 22a-22d and shows those sums on a computer monitor at short time intervals while the operator is slowly rotating the lens 66. When the derivative value reaches a maximum, or reaches a desired range, the optimal focus is reached and the adjustment can be stopped.

After completing the focus adjustment, the program begins to measure the image resolution, as represented by steps 132 and 134. This resolution is dependent on the distance between the camera 62 and the cassette 10 under a defined lens 66, and the image resolution can be calculated from the distance between two vertical lines, such as two column borders in the image. To measure this distance, the program first searches for the positions of the two borders using an edge detection program, and a variety of edge detection methods may be used for this purpose.

In a preferred embodiment, the edge detection program is based on a derivative method. In this method, the program first generates two windows on the left and right sides of the image frame to cover the two column borders. Then, the gray values in each window are projected into a one dimensional vector. At each point on each vector, a projected value is obtained by adding the gray values of all the pixels in the vertical line through that point. The derivatives

of these sums of the gray values are determined and the maximum derivative values are obtained. These maximal derivative values correspond to the maximal variation of the gray scale and therefore determine the locations of the two borders.

Once the locations of the two column borders are found, the distance between these two borders can be calculated. If this distance is not in a predefined range, the program indicates that the camera position needs to be adjusted. If the distance between the two column borders is smaller than a pre-defined lower value, then the camera 62 needs to be moved closer to the cassette 10 to increase the image resolution. If the distance between the two column borders is more than a pre-defined upper value, then the camera 62 should be moved away from the cassette 10 to decrease the image resolution. Preferably, in this adjustment process, the program continuously determines the distance between the two column borders and shows these distance values on the computer monitor. A human operator can read these values and slowly move the camera toward or away from the cassette until the desired distance value is reached.

Because the focus of the cassette image on the pixel array 60 is dependent on the distance between the camera 62 and the pixel array, the focus of the camera lens 66 needs to be re-adjusted after the camera is located the preferred distance from the pixel array, as represented by step 136 in Figure 6, and preferably the above-described procedure for focusing the cassette image is repeated to re-focus that image. After the re-adjustment of this focus, the calibration program begins to adjust the different scan positions at which the mover 94 holds the cassette to generate the cassette image on the pixel array, as represented by step 140. This adjustment is based on the symmetrical

location of the columns in the image frame, and these columns are located by using any suitable edge detection method.

For instance, an edge detection procedure similar to the one described above may be used to locate these columns. Preferably, the adjustment of these scan positions are performed automatically by the data processing system sending commands to a stepper motor that controls the mover 94. These commands operate the stepper motor to move the calibration cassette 10 so that the columns of interest are symmetrically located relative to the center of the image frame. After this adjustment is completed, the position of the cassette 10 is recorded, and this position is used as a reference to locate the test cassettes during analysis of the blood samples therein.

After finishing a first scan position adjustment as represented by step 142, the calibration cassette, at step 144, may be moved to the next scan position. This second scan position, as represented by steps 146 and 150, may be measured and adjusted using the same above-described, or a similar, method. Alternatively, it may be noted, the second scan position may be calculated mathematically based on the known location of the first scan position.

Next, at step 152, the program adjusts the gain and offset of the imaging board 74 in order to achieve the optimal image intensity and contrast. To complete this adjustment, the area of photographic scale 16 and opaque white region 20 is projected onto the pixel array to form an image. The gray values of the pixels in the image of each of the seven strips 16a-16g of the photographic scale 16 are measured. On the basis of these measured gray values, the electronic gain and offset of the imaging processing board 74 are gradually adjusted until the gray values for the pixels

in the image of the photographic scale reach desired values or ranges.

For example, in an embodiment of the invention that has been actually reduced to practice, the four optical density levels are 2.5, 0.44, 0.19 and 0.09. Under preferred adjusted values, the intensity levels of the images corresponding to these four optical density values are 0, 82, 140 and 180, respectively. In the calibration of the imaging system, the gain and offset of the imaging board are adjusted so that the intensity levels are equal to, or very close to, the above-defined values.

These measured gray values for the pixels in the image of the photographic scale are primarily determined by the lamp located in the side of the calibration cassettes 10 that is opposite the pixel array 60. To check the condition of the lamp that is on the same side of the calibration cassette as the pixel array, the gray value for the pixels in the image of the opaque white region 20 is measured. If this gray value is within a desired range, the program signals to the operator that the lamp is in good condition; however, if that gray value is outside of the desired range, the program displays an error message and requests that the operator change the lamps.

After completing the gain and offset adjustment and the lamp verification, additional scan positions of the cassette may be adjusted, as represented by step 154. In particular, the calibration cassette 10 is moved to the third scan position at step 156, and this third scan position is adjusted at step 160 using a method that is the same as, or similar to, the method used to adjust the first two scan positions. Then, at step 162 the cassette 10 is turned 180° and the fourth scan position is

adjusted, as represented by steps 164 and 166, again using the same, or similar, method used to adjust the first and second scan positions. The cassette is then turned 180° and moved back to the first scan position, as represented by steps 170 and 172. Measurements are not necessary to adjust the fifth and sixth scan positions of cassette 10 because the specific locations for these latter two scan positions can be calculated from the previously determined scan positions.

The determination of the precise scan positions completes the adjustment procedure; and once this is done, the results of the adjustments and the performance of the software for the agglutination analysis are checked. To do this, the program reads the reactions printed at 22a-22d on the calibration cassette and verifies the results. To perform this verification, the calibration cassette 10 is, at step 172, moved to the first scan position and an image of the first two reaction columns 22a and 22b is generated on the pixel array 60. The data values for the pixels in the image of each reaction column are processed, at step 174, by a predetermined image processing program, for example as described in copending patent application no. 08/163,996, for "Method and system for Classifying Agglutination Reactions." In particular, by analyzing this image data, the image processing program extracts the features that are directly related to the agglutination reactions, such as (1) the size of the cell pellet; (2) the shape of the cell pellet border; (3) the location and size of red cell agglutinates in the column; and (4) the side to side balance of red cells in the column.

Once these feature values are obtained, a software program, referred to as a reaction classification program, transforms a set of feature values into one of a plurality of predefined reaction

classes, such as positive, negative, indeterminate, or special type reaction. The positive reaction, may be further classified as +0.5, +1, +2, +3, or +4 reactions. The special reactions may also be further classified, or more specifically identified as, for example, hemolysis, a mixed field, or as reactions in which too many or too few cells were added.

After the verification of the first two reactions pictures 22a and 22b, the calibration cassette 10 is, at step 176, moved to the third scan position, and the image data from the two remaining reaction pictures 22c and 22d is generated. This reaction image data are, at step 180, processed and classified by the same image data processing program. The cassette 10 can be moved back to carousel 90, as represented by step 182. After finishing the analysis of all four reaction pictures, the program compares the obtained feature values and reaction classes of the four reactions to the predefined, known values.

If the extracted feature values from the reaction images 22a-22d of the calibration cassette are within required ranges and the reactions are correctly classified, the calibration procedure is completed and the program signals the operator that the instrument 30 is ready for use in real sample testing. If one or more feature values are out of the associated, desired range or a wrong classification is obtained, or both, then the operator may check for defects in the calibration cassette 10 or in the image processing system 30 and repeat the entire calibration procedure.

If an error occurs again, the operator may be alerted not to use the analysis instrument 30 and to request service, maintenance or repair of the instrument.

It should be noted that the procedure described herein in detail is not the only method for performing the calibration. For example, the same

objectives can be achieved even though the specific order of the calibration steps may be changed or different image processing methods may be used.

While it is apparent that the invention herein disclosed is well calculated to fulfill the objects previously stated, it will be appreciated that numerous modifications and embodiments may be devised by those skilled in the art, and it is intended that the appended claims cover all such modifications and embodiments as fall within the true spirit and scope of the present invention.

4. Brief Description of Drawings

Figure 1 illustrates a calibration cassette that may be used to calibrate an automated agglutination reaction analysis system.

Figure 2 shows different agglutination patterns on the calibration cassette.

Figure 3 is a schematic diagram of an automated agglutination reaction analysis system.

Figure 4 is a block diagram illustrating several components of the system of Figure 3.

Figure 5 is a block diagram illustrating in greater detail a processing subsystem of the analysis system of Figure 3.

Figures 6, 7 and 8 are flow charts showing a procedure for using the cassette of Figure 1 to calibrate the analysis system of Figures 3 and 4.

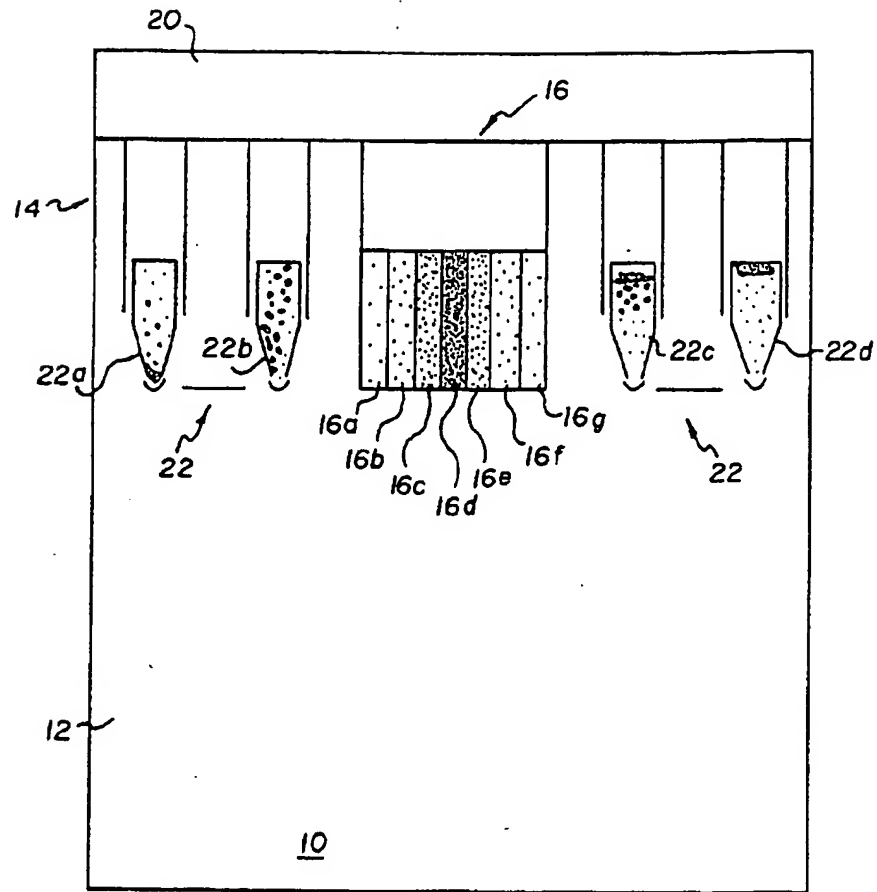


FIG. 1

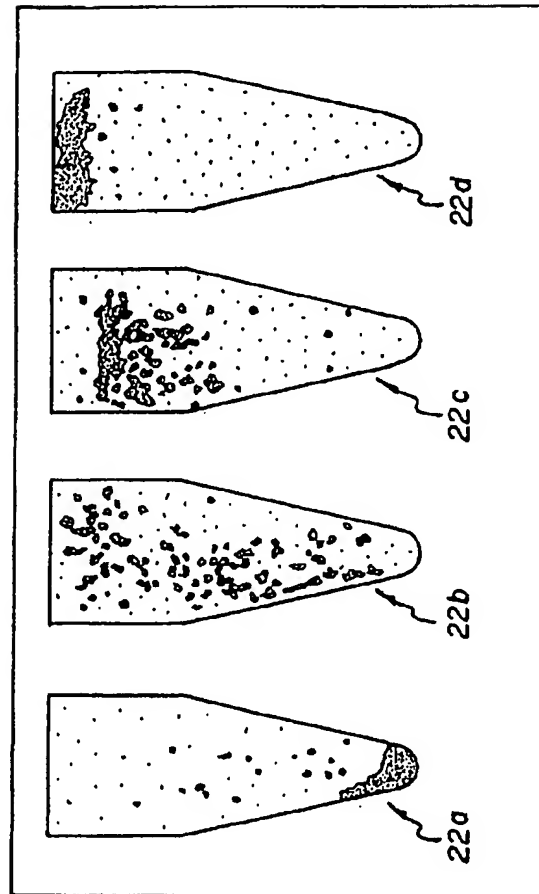


FIG. 2

(45)

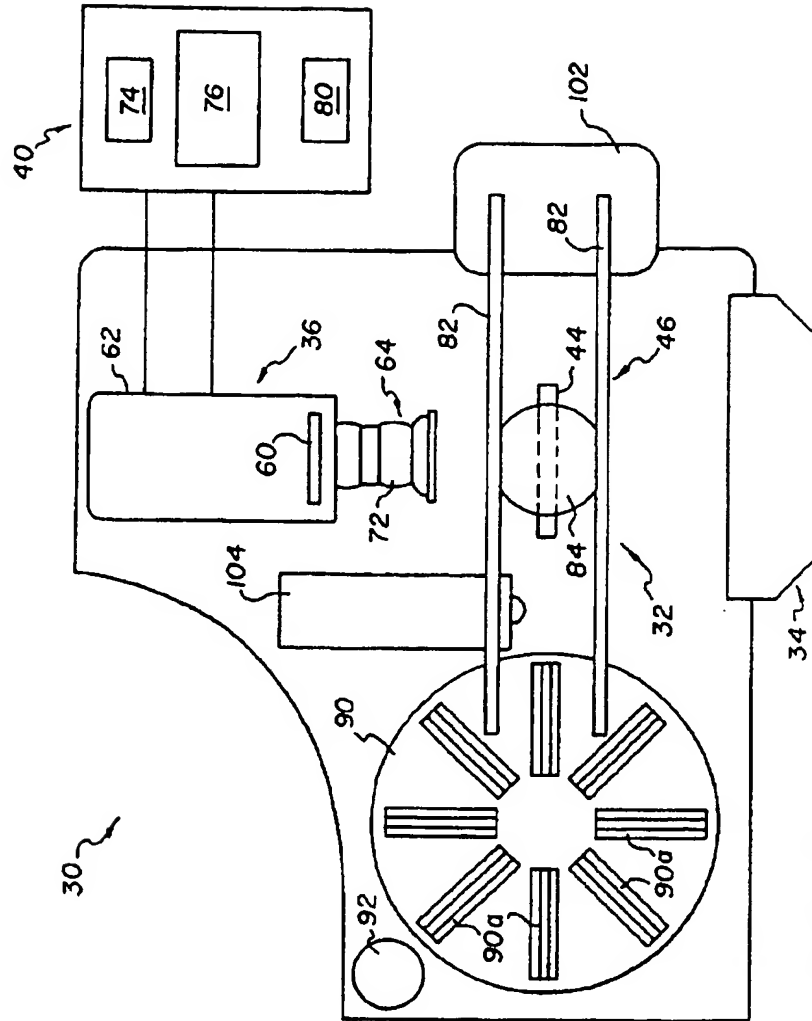


FIG. 3

(46)

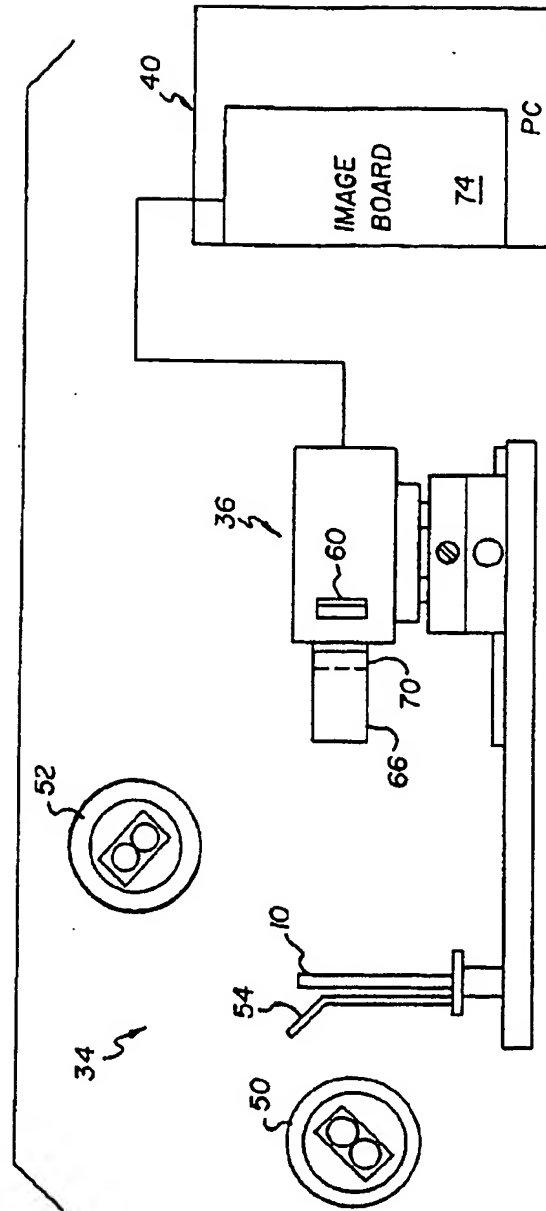


FIG. 4

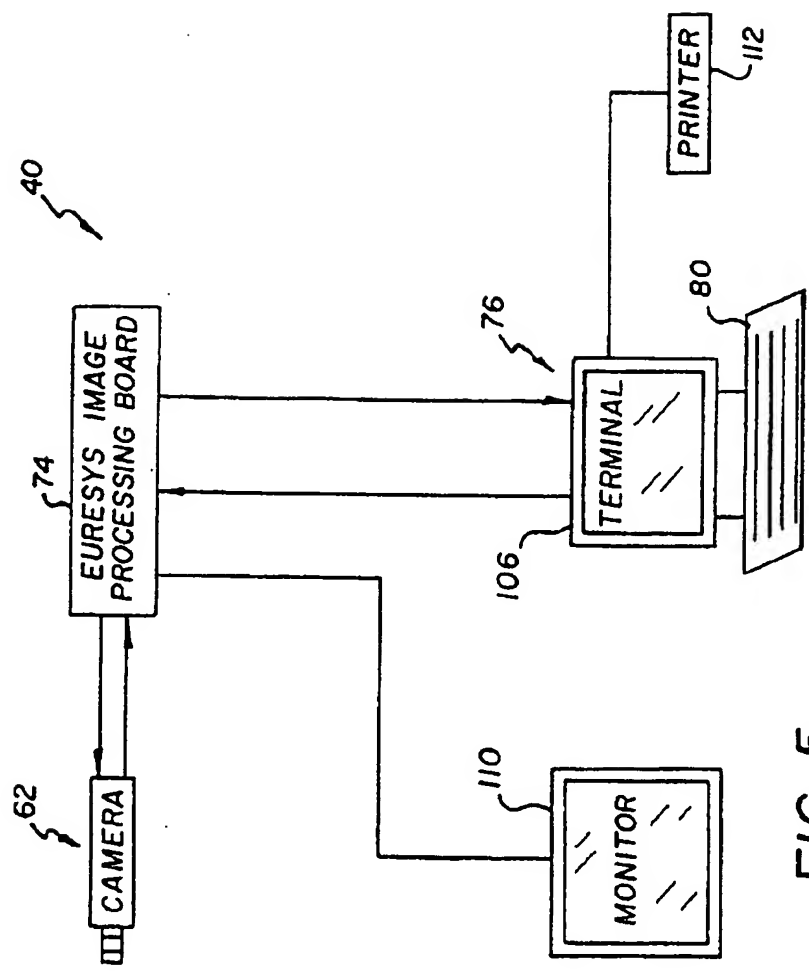


FIG. 5

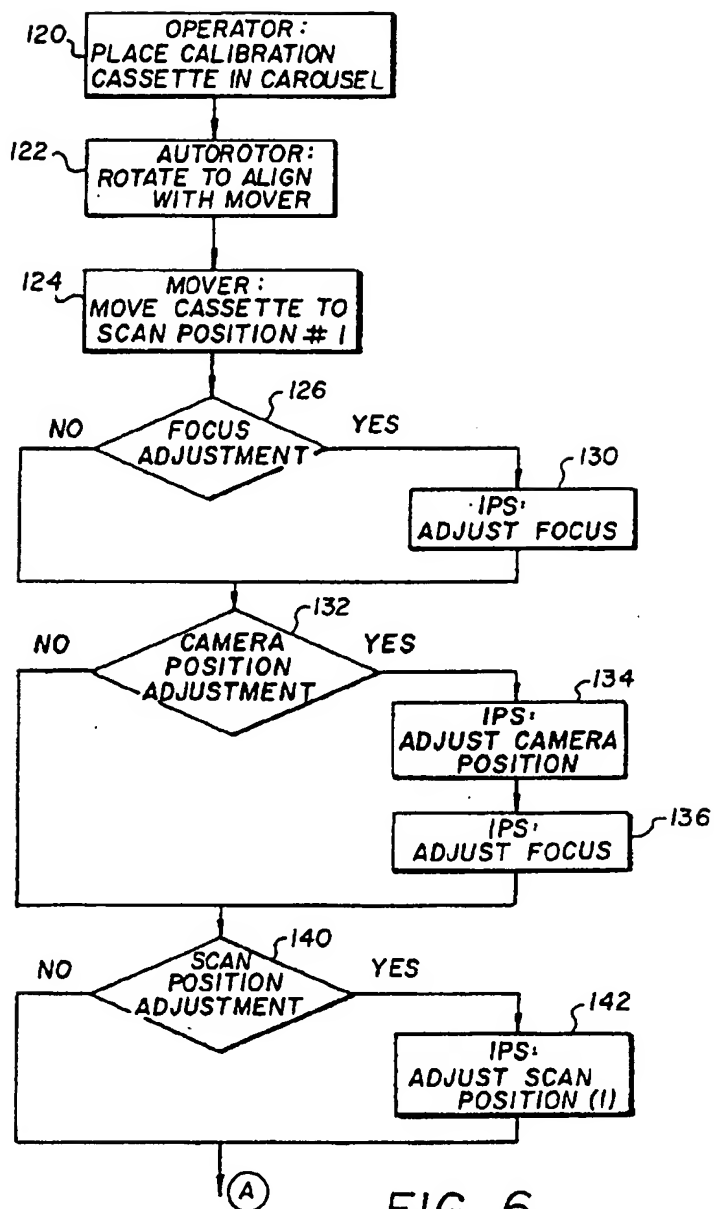
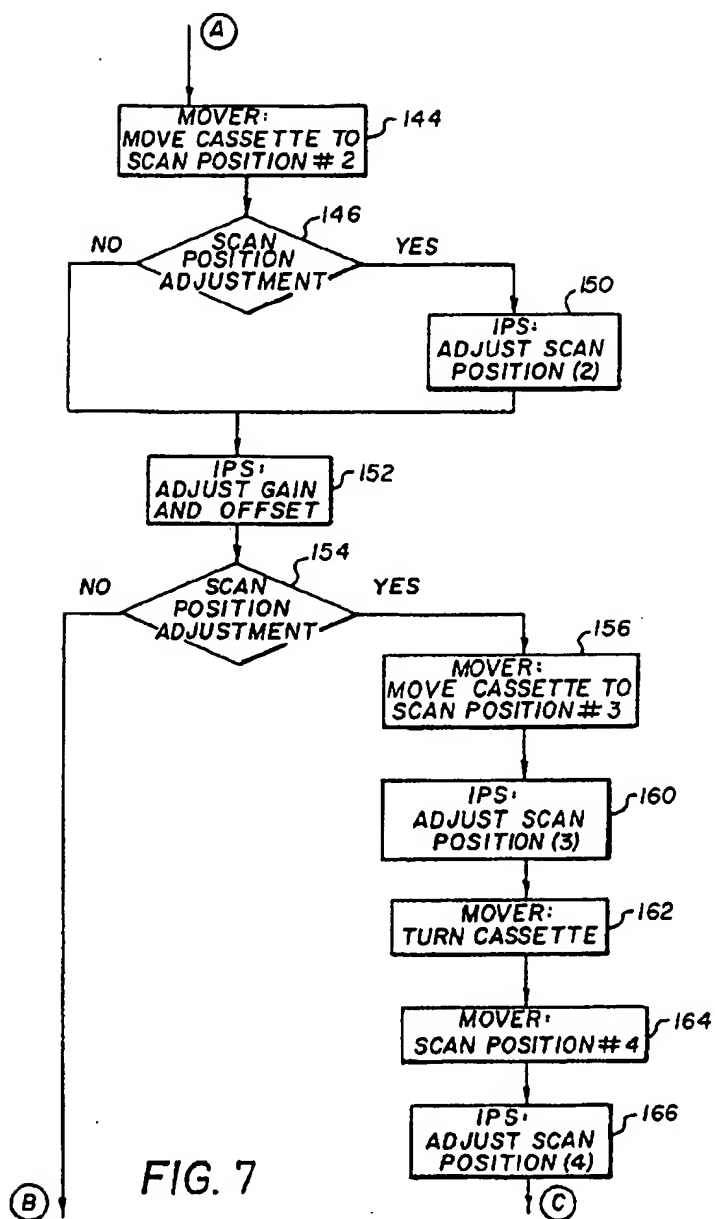


FIG. 6



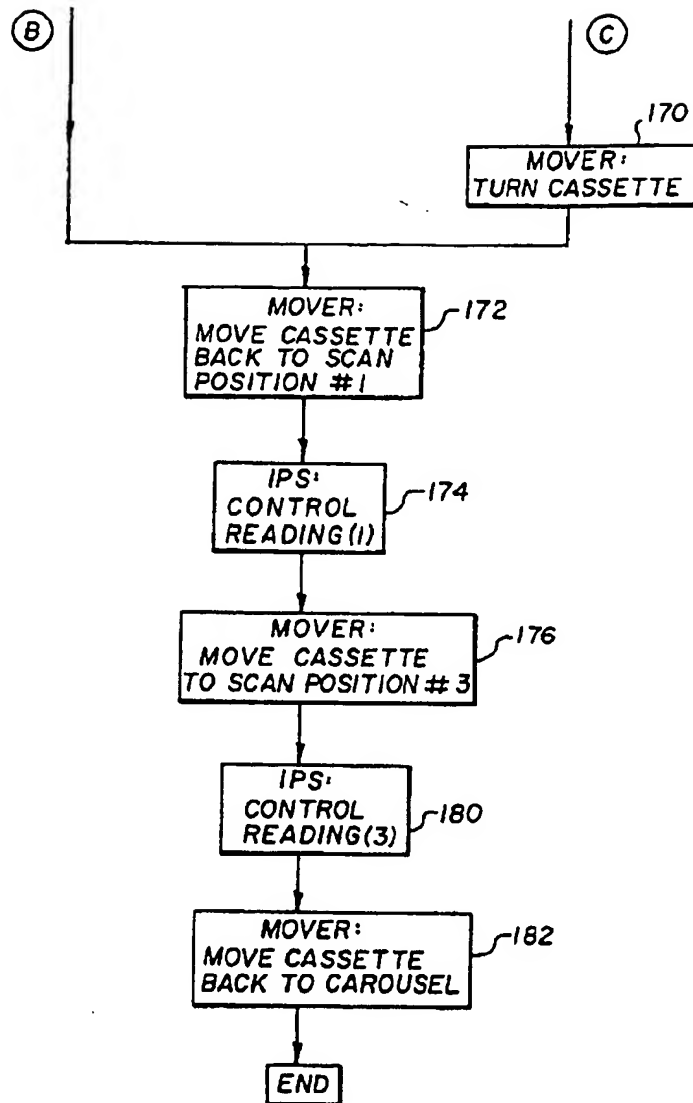


FIG. 8

1. Abstract

A method, and a calibration device, for calibrating a system for analyzing aqueous solutions and that includes a pixel array and a variable focus line for focusing onto the pixel array illuminated images of the aqueous solutions. The method includes the steps of illuminating a pattern on the calibration device to form an illuminated image of that pattern, and directing that illuminated image through the lens and onto the pixel array. The method includes the further step of deriving data values representing the image on the pixel array, and using those data values to adjust the focus of the lens and to adjust the position of the calibration device relative to the pixel array.

2. Representative Drawing

None